

Agar czekoladowy dla Haemophilus 2 (HAE2)

IVD

Wybiórcza izolacja *Haemophilus*

WPROWADZENIE

Agar czekoladowy dla *Haemophilus* 2 jest wybiórczym podłożem do izolacji różnych gatunków *Haemophilus* z materiałów bogatych we florę bakteryjną.

ZASADA DZIAŁANIA

Izolacja gatunków *Haemophilus* z materiałów klinicznych pobranych z dróg oddechowych lub rodnych jest często utrudniona z powodu obecności dużej ilości flory towarzyszącej.

Podłoże to składa się z bazy, którą stanowią substancje odżywcze, wzbogacone czynnikami X (hemina) i V (NAD) pochodzącymi z hemoglobiny i PolyViteX'u (1).

Wybiórczość agaru czekoladowego dla *Haemophilus* 2 jest związana z obecnością czynników antybakteryjnych i przeciwgrzybowych hamujących większość bakterii Gram-dodatnich i drożdżaków (2).

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU

Podłoże gotowe do użycia	
REF 43 681	Opakowanie 2x10 płytek (90 mm)
REF 43 689	Opakowanie 10x10 płytek (90 mm)
HAE2 *	

* wydrukowano na każdej płytce

SKŁAD

Teoretyczna zawartość:

Podłoże to może być dostosowywane i/lub uzupełniane zgodnie z wymaganymi kryteriami.

Pepton kazeinowy (wołowy).....	7.5 g
Pepton mięsny (wołowy lub wieprzowy).....	7.5 g
Skrobia kukurydziana	1 g
Fosforan dipotasowy.....	4 g
Chlorek sodu	5 g
Hemoglobina (wołowa)	10 g
Agar.....	10 g
PolyViteX.....	10 ml
Mieszanina antybiotyków	10 m
Oczyszczona woda.....	1000 ml

pH 7,3

WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIE NALEŻĄCE DO ZESTAWU

- Generatory do wytwarzania atmosfery.
- Pojemniki do hodowli.
- Inkubator bakteriologiczny.
- Lub inkubator z kontrolowaną atmosferą.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.**
- **Do wykorzystania wyłącznie przez profesjonalistów.**
- Produkt zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Świadectwo pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantuje w pełni nieobecności czynników chorobotwórczych. Dlatego należy obchodzić się z nim zgodnie z zasadami postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym (nie spożywać i nie wdychać).

- Wszystkie próbki pobrane od pacjentów, hodowle bakteryjne i wykorzystane produkty są potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane zgodnie z zalecanymi środkami ostrożności. Należy stosować techniki aseptyczne i zwykłe procedury obowiązujące przy pracy ze szczepami bakteryjnymi zgodnie z "CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline* – Bieżąca wersja". Dodatkowe środki ostrożności zawarte są w "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH – Ostatnie wydanie", lub regulowane przepisami właściwymi dla poszczególnych państw.
- Podłoża hodowlane nie powinny być wykorzystywane jako materiał do produkcji lub składniki.
- Nie używać płytek przeterminowanych.
- Nie używać podłoża, jeśli opakowanie jest uszkodzone.
- Nie używać przerośniętych lub wyschniętych płytek.
- W celu osiągnięcia odpowiednich wyników należy stosować procedurę zawartą w opakowaniu. Każda modyfikacja procedury może wpływać na wyniki.
- W interpretacji wyników testu należy wziąć pod uwagę historię choroby pacjenta, miejsce pobrania materiału, makro- i mikroskopową morfologię oraz jeśli będzie konieczne, wyniki innych przeprowadzonych testów.

PRZECHOWYWANIE

- **Płytki przechowywać w pudełku w temperaturze 2-8°C do upłynięcia daty ważności.**
- Jeśli nie są w pudełku, płytki mogą być przechowywane przez 2 tygodnie w 2-8°C w opakowaniach celofanowych.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Można używać wszystkich typów materiałów (z dróg moczopłciowych, nosogardzieli itp.), które należy posiewać bezpośrednio na agar (4).

Należy respektować zasady dobrej praktyki laboratoryjnej dla pobierania i transportu materiału oraz przystosowywać je do jego typu.

SPOSÓB UŻYCIA

1. **Doprowadzić płytki do temperatury pokojowej.**
2. Posiać materiał natychmiast po dostarczeniu do laboratorium.
3. Umieścić płytkę w odpowiedniej atmosferze (CO₂), jeśli to konieczne użyć właściwego generatora.
4. Inkubować w temperaturze 37°C przykrywką do dołu. Użytkownik jest odpowiedzialny za wybór właściwej temperatury inkubacji, zgodnie z zamierzeniami i obowiązującymi standardami. Hodowle są na ogół oceniane po 24 godzinach inkubacji. Jeśli wynik jest ujemny po 24 godzinach inkubacji, należy ją przedłużyć do 48 godzin.

ODCZYT I INTERPRETACJA

- Po inkubacji obserwować wzrost bakterii.
- Identyfikację wyizolowanego(ych) mikroorganizmu(ów) należy wykonywać przy użyciu dodatkowych testów.

KONTROLA JAKOŚCI**Protokół:**

Podłoże można kontrolować przy użyciu następujących szczepów:

- Haemophilus influenzae* ATCC®10211
(inkubacja w atmosferze wzbogaconej w CO₂).
- Candida albicans* ATCC®60193

Zakres spodziewanych wyników :

Szczep	Wyniki w 33-37°C
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC®10211	Wzrost po 24 godzinach
<i>Candida albicans</i> ATCC®60193	Częściowe zahamowanie wzrostu przez 48 godzin

Uwaga :

Obowiązkiem użytkownika jest prowadzenie kontroli jakości biorąc pod uwagę zamierzony sposób wykorzystania podłoża i zgodność z lokalnymi przepisami (częstotliwość, liczba szczepów, temperatura inkubacji...).

OGRANICZENIA TESTU

- Obecność cząsteczek hemoglobiny może czasami być widoczna na agarze. Jednakże nie ma to wpływu na przydatność podłoża.
- Wzrost zależy od indywidualnych wymagań każdego mikroorganizmu. Może zdarzyć się, że jakiś szczep *Haemophilus* o specyficznych wymaganiach nie wyrośnie.
- W zależności od badanego materiału i rodzaju drobnoustroju zaleca się stosowanie agaru czekoladowego dla *Haemophilus 2* w połączeniu z dodatkowymi niewybiórczymi podłożami (podłoże czekoladowe + PolyVitex).

OCENA TESTU

Agar czekoladowy dla *Haemophilus 2* (HAE2) porównywano z agarem czekoladowym dla *Haemophilus* (HAEM) i innymi podłożami do izolacji *Haemophilus*.

350 klinicznych ludzkich izolatów (np. z nosogardzieli, bronchoaspiratów lub dróg rodnych) posiewano bezpośrednio lub po opracowaniu.

podłoża oceniano po 24 i 48 godzinach inkubacji w 37°C w atmosferze wzbogaconej w CO₂.

Właściwości odżywcze dla *Haemophilus* :

Z 62 na 350 prób wyhodowano *Haemophilus* na przynajmniej 3 podłożach (potwierdzone identyfikacją).

Ogółem zidentyfikowano 65 szczepów *Haemophilus*:

- 26 *H. influenzae*
- 36 *H. parainfluenzae*
- 3 *Haemophilus* spp.

Liczba wyizolowanych szczepów *Haemophilus* (włączając *H. influenzae*)

	Wszystkie podłoża	HAE2	HAEM	Inne podłoże dla <i>Haemophilus</i>
24 h	50 (21)	43 (19)	33 (15)	44 (18)
48 h	65 (26)	52 (21)	45 (20)	57 (20)

Wybiórczość :

Ogólna liczba materiałów, w których wyhodowano florę bakteryjną na badanych podłożach:

	Wszystkie podłoża	HAE2	HAEM	Inne podłoże dla <i>Haemophilus</i>
24 h	182	143	117	151
48 h	209	166	129	174

Wskaźnik wybiórczości HAE2 dla bakterii Gram-dodatnich i drożdżaków jest porównywalny z agarem HAEM :

	HAE2	HAEM	Inne podłoże dla <i>Haemophilus</i>
Drożdżaki	1	1	40
Bakterie Gram-dodatnie	0	0	2

POSTĘPOWANIE ZE ZUŻYTYMI TESTAMI








Zużytych i nieużytych odczynników, jak również zanieczyszczonych sprzętów jednorazowych, należy pozbywać się zgodnie z procedurami dla materiałów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.

Obowiązkiem każdego laboratorium jest pozbywanie się zużytych testów i wytworzonych ścieków w zależności od typu i stopnia zabezpieczenia laboratorium oraz dezynfekować je i usuwać (zlecić dezynfekcję i usuwanie) zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

PIŚMIENNICTWO

- CAMPOS J.M. - *Haemophilus*. - in MURRAY P.R., BARON E.J., PFALLER M.A. and al. *Manual of Clinical Microbiology* – 6th Ed., ASM Press., 1995, p.556 - 565.
- CHAPIN K.C., DOERN G.V. - Selective media for recovery of *Haemophilus influenzae* from specimens contaminated with upper respiratory tract microbial flora - *J. Clin. Microbiol.*, 1983, vol. 17, n°6, p. 1163-1165.
- DABERNAT H., GALTIER M., LEFEVRE J.C. et al. - *Haemophilus* isolés en pathologie broncho-pulmonaire. Leur sensibilité aux antibiotiques in vitro – *Médecine et maladies infectieuses.*, 1975, vol. 5, n°6 bis, p. 357-361.
- RENAUD F., FRENEY J. – Bactériologie médicale pratique, *Lyon Pharm.*, 1987, vol. 38, n°5, p. 271-280.

TABELA SYMBOLI

Symbol	Znaczenie
 lub REF	Numer katalogowy
	Wyrób do diagnostyki In Vitro
	Producent
	Przestrzegać zakresu temperatury
	Użyć przed
	Kod partii
	Sprawdź w instrukcji obsługi
	Wystarczy na wykonanie <n> testów

BIOMERIEUX oraz logo BIOMERIEUX są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącymi do bioMérieux, jednego z jego podmiotów zależnych lub jednej z jego firm.
ATCC jest znakiem towarowym używanym, w trakcie rejestracji lub zastrzeżonym, należącym do American Type Culture Collection.
Wszystkie pozostałe nazwy i znaki towarowe są własnością ich właścicieli.