



# CHOCOLATE AGAR BACITRACIN

Paruošti naudoti plokštelės



Chocolate Agar Bacitracin:  
*Haemophilus influenzae*

## 1 - NAUDOJIMO PASKIRTIS

*In vitro* diagnostikos prietaisas. Selektivi terpė *Haemophilus* spp. izoliavimui iš klininių mėginių su mišria flora.

## 2 – SUDĖTIS – TIPINĖ FORMULĖ \*

Peptokompleksas	15 g
Kukurūzų krakmolai	1 g
Dikalium hidrogenfosfatas	4 g
Kalio dihidrogeno fosfatas	1 g
Natrio chloridas	5 g
Agaras	12 g
80 °C kaitinta defibrinuota arklių kraujas	70 ml
Bacitracinas	20 000 UI
Vankomicinas	5 mg
Išgrynintas vanduo	1000 ml
<b>Biovitex praturtintas papildas</b>	
Nikotinamido adenino dinukleotidas (NAD)	2,5 mg
Kokarboksilazė	1 mg
p-aminobenzoinė rūgštis	0,13 mg
Tiaminas	0,03 mg
Vitamins B12	0,1 mg
L-glutaminas	100 mg
L-cistinas	11 mg
L-cisteinas HCl	259 mg
Adeninas	10 mg
Guaninas HCl	0,3 mg
Geležies nitratas.6H <sub>2</sub> O	0,2 mg
Gliukozė	1 g

\*Formulė gali būti koreguojama ir (arba) papildoma, kad atitiktų reikiamus veikimo kriterijus.

## 3 – METODO PRINCIPAS IR PROCEDŪROS PAAIŠKINIMAS

*Haemophilus* gentis apima klininę reikšmę turinčius gramneigiamus kokobacilus, kurie optimaliai auga 35–37 °C temperatūroje. *Haemophilus influenzae* yra pagrindinis patogenas, susijęs pirmiausia su viršutinių kvėpavimo takų infekcijomis.

1969 m. Hovig ir Aandahl<sup>1</sup> sukūrė selektyvią terpę *Haemophilus* spp. izoliavimui iš kvėpavimo takų, į šokolado agarą įmaišydami 300 mg/l bacitracino. Naudojant selektyvią terpę padidėjo *Haemophilus* sp. izoliavimo iš visų mėginių dažnis: nosies tepinėlių izoliavimo dažnis padidėjo nuo 32 % iki 41,3 %, gerklės tepinėlių – nuo 30,7 % iki 98,7 %, skreplių mėginių – nuo 3,4 % iki 61,4 %<sup>1</sup>.

Šokoladinis agaras Bacitracin yra selektyvi terpė, paruošta iš GC terpės pagrindo, papildyta kaitintu defibrinuotu arklių krauju, Biovitex, bacitracinu ir vankomicinu, skirta *Haemophilus* spp. izoliavimui ir kultivavimui iš klininių mėginių, užterštų mažiau reikliomis komensalinėmis bakterijomis.<sup>2-4</sup> Peptokompleksas teikia anglį, azotą ir mikroelementus bakterijų augimui, natrio chloridas palaiko osmosinę pusiausvyrą, dibazinis ir monobazinis kalio fosfato buferis apsaugo nuo pH pokyčių dėl aminų gamybos, kukurūzų krakmolai įtrauktas siekiant absorbuoti mėginyje esančius toksinius šalutinius produktus ir yra energijos šaltinis bakterijų augimui. Šildytas arklių kraujas suteikia hemina (X faktorių), reikalingą *Haemophilus* spp. augimui. Terpė papildyta Biovitex, kuris suteikia V faktoriaus (NAD) vitaminus, amino rūgštis, kofermentus, dekstrozę, geležies jonus ir kitus faktorius, kurie pagerina rūšių, kurioms augimui reikalingas V faktorius, augimą: *H. influenzae*, *H. ducrey*, *H. aegyptius*, *H. haemolyticus*.<sup>2</sup> Bacitracinas slopina daugumos streptokokų, stafilokokų, mikrobakcijų ir *Neisseria* rūšių augimą, vankomicinas veikia Gram teigiamoms bakterijoms.

## 4 - FIZINĖS SAVYBĖS

Terpės išvaizda rudas, nepermatomas  
Galutinis pH 20–25 °C temperatūroje 7,2 ± 0,2

## 5 – PATEIKTOS MEDŽIAGOS – PAKUOTĖ

Produktas	Tipas	REF	Pakuotė
Chocolate Agar Bacitracin	Paruošti naudoti plokštelės	541519	2 x 10 plokštelių ø 90 mm pirminė pakuotė: 2 celofano maišeliai antrinė pakuotė: kartoninė dėžutė

## 6 - REIKALINGOS, BET NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

Sterilus kilpos ir tamponai, inkubatorius ir laboratorinė įranga pagal poreikį, kontroliuojamos atmosferos generatoriai ir stiklainiai, pagalbinės auginimo terpės ir reagentai kolonijų identifikavimui.

## 7 – MĖGINIAI

Šokolado agaras Bacitracin plokštelės gali būti tiesiogiai inokuliuojamos fiziologiškai nesteriliais klininiais mėginiais, paimtais iš žmogaus ausų ir kvėpavimo takų<sup>2-4</sup>. Jei įmanoma, mėginius reikia paimti prieš antimikrobinį gydymą. Reikia laikytis geros laboratorinės praktikos, susijusios su klininių mėginių paėmimu, transportavimu ir saugojimu<sup>3-5</sup>.





## 8- TYRIMO PROCEDŪRA

Leiskite plokštelėms pasiekti kambario temperatūrą. Inokuliuokite ir ištepkite mėginį kilpa per keturis plokštelės ketvirčius, kad gautumėte gerai izoliuotas kolonijas, užtikrindami, kad 1 ir 4 sekcijos nesutaptų. Alternatyviai, jei medžiaga yra kultivuojama tiesiogiai iš tampono, perbraukite tamponu per nedidelį paviršiaus plotą krašte; tada ištepkite iš šio inokuliuoto ploto.

Inkubuokite 35–37 °C drėgnoje aplinkoje, esant 5–10 % CO<sub>2</sub>, ir užrašykite rezultatus po 24 ir 44–48 valandų, kad gautumėte pakankamą *H. influenzae* ir daugumos kitų *Haemophilus* rūšių augimą. Kai kultivuojami *H. aegyptius* ir *H. ducreyi* mėginiai, inkubacija gali trukti iki 5 dienų.<sup>2</sup> Be to, kai mėginyje įtariamas *H. ducrey*, plokštelės turėtų būti inkubuojamos 30–33 °C temperatūroje, esant 5 % CO<sub>2</sub> ir dideliame drėgnumui.<sup>2</sup>

## 9 – SKAITYMAS IR INTERPRETAVIMAS

Po inkubacijos stebėkite bakterijų augimą ir užrašykite konkrečias kolonijų morfologines ir chromatinės savybes.

*Haemophilus* spp. kolonijų morfologija apibendrinta toliau.<sup>2</sup>

*H. influenzae* kolonijos yra apie 1–2 mm skersmens, lygios, žemos, išgaubtos, pilkos spalvos ir permatomos, turi būdingą „pelės“ kvapą (neindolio gaminančios padermės) arba stiprų aminų kvapą (indolio gaminančios padermės).

*H. aegyptius* kolonijos po 48 valandų inkubacijos pasiekia 0,5 mm dydį; kolonijos yra žemos, išgaubtos, permatomos, su lygia visa paviršiaus danga.

*H. parainfluenzae* kolonijos paprastai yra nuo balkšvos iki geltonos spalvos ir, kaip ir *H. influenzae*, 1–2 mm skersmens. Kolonijų išvaizda yra labai įvairi.

*H. haemolyticus* kolonijos yra permatomos, lygios ir išgaubtos.

*H. ducrey* kolonijos yra mažos, plokščios, pilkos ir lygios.

## 10 – VARTOTOJO KOKYBĖS KONTROLĖ

Visos pagamintos produkto partijos yra išleidžiamos į pardavimą po to, kai atlikta kokybės kontrolė, siekiant patikrinti atitiktį specifikacijoms. Tačiau galutinis vartotojas gali atlikti savo kokybės kontrolę pagal vietos galiojančius reglamentus, laikydamasis akreditacijos reikalavimų ir laboratorijos patirties. Toliau pateikiami kai kurie bandymų štamai, naudingi kokybės kontrolei.

KONTROLINIAI ŠTAMAI	INKUBACIJOS TEMPERATŪRA / T / ATM	TIKĖTINI REZULTATAI
<i>H. influenzae</i> ATCC 10211	35–37 °C / 24–48 val. / CO <sub>2</sub>	geras augimas
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	35–37 °C / 44–48 val. / CO <sub>2</sub>	augimas slopinamas

ATCC yra Amerikos tipinių kultūrų kolekcijos prekės ženklas

## 11- VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

Prieš pateikiant į rinką, visų partijų paruoštų naudoti „Chocolate Agar Bacitracin“ plokštelių reprezentatyvusis mėginys yra tikrinamas dėl produktyvumo ir selektyvumo.

Produktyvumas tiriamas pusiau kiekybiniu ekimetrinės technikos metodu, naudojant *H. influenzae* ATCC 10211 ir *H. influenzae* ATCC 49247. Po 18–24 valandų inkubacijos 35–37 °C temperatūroje, esant 5–10 % CO<sub>2</sub>, įvertinamas ir užregistruojamas augimo kiekis. Tikslinės padermės rodo gerą augimą.

Selektyvumas vertinamas modifikuotu Miles-Misra paviršiaus lašų metodu, įterpiant į lėkšteles tinkamus dešimtainius skiedimus fiziologiniame tirpale su 0,5 McFarland suspensija netikslinių organizmų *S. pyogenes* ATCC 19615 ir *S. aureus* ATCC 25923. Po inkubacijos 35–37 °C temperatūroje 44–48 valandas, esant 5–10 % CO<sub>2</sub>, netikslinės rūšys visiškai neauga.

Tikslumas buvo įvertintas peržiūrint kokybės kontrolės duomenis. Buvo įvertinti 30 partijų, pagamintų nuo 2017 m. lapkričio 9 d. iki 2020 m. balandžio 20 d., rezultatai. 100 % partijų atitiko nustatytus priimtumo kriterijus pagal produktyvumą su tikslinėmis padermėmis ir selektyvumą su netikslinėmis padermėmis.

## 12 – METODO APRIBOJIMAI

- Kartais agare galima pastebėti mažų dalelių. Tačiau šis reiškinys neturi įtakos terpės veikimui.
- Šioje terpėje gali augti *E. coli*, kai kurios *Neisseria* ir *Candida* rūšys, *Klebsiella*, *Proteus* ir *Pseudomonas* spp., taip pat kitos gramneigiamos bakterijos.
- Prietaisas nėra skirtas *Haemophilus* infekcijoms diagnozuoti ar antimikrobinio gydymo rekomendacijoms teikti. Jis naudojamas diagnostinių tyrimų rinkinyje, siekiant gauti mikrobo kolonijas, izoliuotas iš klinikinių mėginių, paimtų iš pacientų, įtariamų *Haemophilus* infekcija.
- Augimas terpėje priklauso nuo kiekvieno mikroorganizmo metabolizmo poreikių ir atsparumo esamiems antimikrobinėms medžiagoms; kai kurios tikslinės bakterijų rūšys gali neaugti arba augti lėčiau. Augimo nebuvimas arba tipinių kolonijų nebuvimas nereiškia, kad mėginyje nėra *Haemophilus* bakterijų.
- Viena terpė retai kada yra naudinga tikslinėms kolonijoms, esančioms mėginyje, atkurti, todėl organizmams tipizuoti būtina atlikti lygiagrečius kultūrinio auginimo tyrimus.
- Norint visiškai identifikuoti ir epidemiologiškai tipizuoti kolonijas, reikia atlikti atitinkamus tyrimus; jei reikia, atlikite antimikrobinį preparatų jautrumo tyrimus, naudodami rekomenduojamus metodus.

## 13 – ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

- Šis produktas yra kokybinis in vitro diagnostikos (IVD) prietaisas, skirtas tik profesionaliam naudojimui. Jis nėra automatizuotas ir nėra papildomas diagnostikos prietaisas. Jį turi naudoti tinkamai apmokyti ir kvalifikuoti laboratorijos darbuotojai, taikydami standartinę biologinio pavojaus atsargumo priemones ir aseptines technikas.
- Pagal galiojančius Europos Sąjungos teisės aktus šis produktas nėra klasifikuojamas kaip pavojingas.
- Ši auginimo terpė yra gyvūninės kilmės žaliavų. Todėl paruoštos naudoti plokštelės turi būti laikomos potencialiai infekcinėmis ir naudojamos laikantis atitinkamų atsargumo priemonių: negalima nuryti ar įkvėpti, taip pat reikia vengti sąlyčio su oda, akimis ir gleivinėmis. TSE pareiškimas, aprašantis rizikos mažinimo priemones, susijusias su užkrečiamomis spongiforminėmis encefalopatijomis, yra pateiktas gamintojo interneto svetainėje ([www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it)).
- Visi laboratoriniai mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais.
- Laboratorijos patalpos turi būti kontroliuojamos, kad būtų išvengta užteršimo kultūrinėmis terpėmis ir (arba) mikrobais.
- Kiekviena plokštelė skirta vienkartiniam naudojimui.





- Paruošti naudoti indai nėra sterilus produktas, nes jie nėra galutinai sterilizuoti; jie pagaminti su kontroliuojama biologine apkrova, neviršijanti specifikacijose, nurodytose kokybės kontrolės sertifikate, nustatytų ribų.
- Prieš išmesdami, dekontaminuokite ir sterilizuokite visas biologiniu pavojumi keliančias atliekas. Nepanaudotas terpę ir lėkšteles, į kurias buvo įterpti klinikiniai mėginiai arba mikrobu štamai, išmeskite pagal galiojančius vietos teisės aktus.
- Analizės sertifikatai ir saugos duomenų lapas yra prieinami gamintojo interneto svetainėje ([www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it)).
- Apie bet kokią rimtą incidentą, susijusį su šio IVD prietaiso naudojimu, praneškite gamintojui ([complaint@biolifeitaliana.it](mailto:complaint@biolifeitaliana.it)) ir atitinkamoms kompetentingoms institucijoms.
- Gamintojas neatsako už jokių nuostolių ar žalą, atsiradusių dėl produkto naudojimo nesilaikant šių instrukcijų.

#### 14 – LAIKYMO SĄLYGOS IR GALIOJIMO LAIKAS

Gavus plokšteles, jas reikia laikyti originalioje pakuotėje 2–8 °C temperatūroje, apsaugant nuo tiesioginių saulės spindulių. Tinkamai laikomos plokštelės gali būti naudojamos iki galiojimo pabaigos datos. Plokštelių negalima naudoti pasibaigus galiojimo datai. Atidaryto plastikinio maišelio plokšteles galima naudoti 7 dienas, jei jos laikomos švarioje vietoje 2–8 °C temperatūroje. Plokštelių nenaudokite, jei plastikinis maišelis yra pažeistas arba indas yra sudaužytas. Plokštelių nenaudokite, jei yra gedimo požymių (pvz., mikrobu užteršimas, dehidracija, terpės susitraukimas ar įtrūkimai, netipinė spalva, drėgmės perteklius).

#### 15 – NUORODOS

1. Hovig B, Aandahl EH. A selective method for the isolation of Haemophilus in material from the respiratory tract. Acta Pathol Microb Scand 1969; 77:676-84
2. Gonzales MD, Ledebor NA. Haemophilus. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
3. UK Health Security Agency. UK Standards for Microbiology Investigations: Painful and/or discharging ear. London: UKHSA; 2025.
4. Public Health England- UK Standards for microbiology investigations (UK SMI) Investigation of bronchoalveolar lavage, sputum and associated specimens B 57, Issue n° 3.5, 2019
5. McElvania E, Singh K. Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.

#### TAIKOMŲ SIMBOLIŲ LENTELĖ

 Katalogo numeris	 Partijos kodas	 <i>In vitro</i> diagnostikos medicinos prietaisais	 Gamintojas	 Šia puse į viršų	 Tik vienkartiniam naudojimui	 Europos atitikties ženklas
 Temperatūros apribojimai	 Turinio pakanka <n> bandymams	 Žiūrėkite elektronines naudojimo instrukcijas	 Naudoti iki	 Laikyti toliau nuo saulės spindulių	 Trapus, tvarkyti atsargiai	 Unikalus prietaiso identifikatorius

#### REDAGAVIMO ISTORIJA

Versija	Pakeitimų aprašymas	Data
1 redakcija	Atnaujintas išdėstymas ir turinys pagal IVDR 2017/746	2020/05
2 redakcija	Pasenusios klasifikacijos pašalinimas	2023/03
3 redakcija	Metodo principas ir procedūros paaiškinimas, pavyzdžiai, metodo apribojimai, veikimo charakteristikos, atsargumo priemonės ir įspėjimai bei taikytinų simbolių lentelė.	2026/03

Pastaba: nedideli tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukti į peržiūrų istoriją.

