BD Готовая среда BBL в пробирках для культивирования анаэробных микроорганизмов **Тиогликолятная среда**

8807191JAA(01)
2013-11
Русский

НАЗНАЧЕНИЕ

Fluid Thioglycollate Medium Enriched (жидкая обогащенная тиогликолятная среда) является средой общего назначения для культивации широкого спектра микроорганизмов, в частности, строгих анаэробных микроорганизмов.

Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate (тиогликолятная среда с карбонатом кальция) также рекомендуется для поддержки исходных («чистых») культур.

КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ

Тиогликолятная среда впервые была описана Брюером (Brewer) как среда, способствующая росту как строгих анаэробных, так и аэробных микроорганизмов.¹ В последствии было разработано несколько версий данной среды.

Рекомендуется введение карбоната кальция, поскольку в противном случае микроорганизмы, требовательные к питательной среде, могут вырасти, а затем быстро погибнуть; это вещество служит для нейтрализации выделяемой во время роста кислоты.^{2,3}

ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ

Казеиновые и соевые пептоны и L-цистин являются источниками аминокислот и других азотистых веществ для поддержания роста микроорганизмов. Дрожжевой экстракт является богатым источником комплексных витаминов В. Хлорид натрия — источником необходимых ионов. Декстроза является источником энергии.

Жидкая обогащенная тиогликолятная среда дополняется геминном и витамином K₁ для усиления роста определенных анаэробных бактерий.³⁻⁵

Карбонат кальция обеспечивает поддержку исходных («чистых») культур посредством нейтрализации выделяемых во время роста кислот.³

Снижение активности, обеспечиваемое тиогликолятом натрия и сульфитом натрия, связывает молекулярный кислород, благодаря чему поддерживается низкое значение Eh.⁶ Небольшое количество агара добавляется для снижения поглощения кислорода посредством замедления конвекционных течений в среде.⁶

Резазурин — это индикатор, используемый для обнаружения изменений в Eh.³ Повышенное окисление приводит к росту Eh, вызывая изменение цвета резазурина на розовый. При низком значении Eh данный индикатор остается бесцветным.

РЕАГЕНТЫ

Fluid Thioglycollate Medium, Enriched

Примерная рецептура* на литр очищенной воды

Панкреатический гидролизат казеина	15,0 г
L-цистин.....	0,5 г
Декстроза	5,0 г
Дрожжевой экстракт.....	5,0 г
Натрия хлорид	2,5 г
Натрия тиогликолят	0,5 г
Резазурин.....	0,001 г
Агар	0,75 г
Гемин.....	0,1 г
Витамин K ₁	2,0 мг

Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate

Примерная рецептура* на литр очищенной воды

Панкреатический гидролизат казеина	17,0 г
Папаиновый гидролизат соевой муки	3,0 г
Декстроза	6,0 г
Натрия хлорид	2,5 г
Натрия тиогликолят	0,5 г
Агар	0,7 г
Сульфит натрия	0,1 г
Карбонат кальция	1 на пробирку

* При необходимости изменяется и (или) дополняется для соответствия критериям эффективности.

Предупреждения и меры предосторожности. Для диагностики *in vitro*.

При составлении отчетов о результатах непосредственного окрашивания по Граму и (или) других непосредственных микробиологических окрашиваний для образцов тканей, обработанных с применением данной среды, следует соблюдать осторожность из-за возможного присутствия в среде культивирования нежизнеспособных микроорганизмов.

В клинических образцах могут присутствовать патогенные микроорганизмы, в том числе вирусы гепатита и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). При работе с любыми образцами, загрязненными кровью или другими биологическими жидкостями, следует соблюдать стандартные меры предосторожности⁷⁻¹⁰ и инструкции учреждения.

Пробирки с плотными крышками следует открывать осторожно, чтобы не разбить пробирку и не пораниться осколками.

Условия хранения. После получения храните пробирки в темноте в соответствии с указаниями на этикетке. Избегайте замораживания и перегрева. Открывайте непосредственно перед использованием. Сведите к минимуму воздействие света. Среда, хранящаяся в пробирках в соответствии с указаниями на этикетке, может быть засеяна до истечения срока годности и выдержана в течение рекомендуемого инкубационного периода. Перед посевом дайте среде нагреться до комнатной температуры.

Разложение продукта. При наличии признаков бактериального загрязнения, испарения или других признаков разложения продукта не используйте пробирки.

Пробирки с жидкой обогащенной тиогликолятной средой Fluid Thioglycollate Medium, Enriched следует утилизировать, если окислению подверглось более одной трети среды, на что указывает доля среды, цвет которой изменился на розовый.

ОТБОР ОБРАЗЦОВ И ОБРАЩЕНИЕ С НИМИ

Данные среды не предназначены для непосредственного культивирования образцов, кроме случаев, когда они используются в качестве запасного обогащенного бульона в дополнение к чашкам со средами для первичного выделения. Дополнительные сведения см. в соответствующей документации.^{4,11,12}

МЕТОДИКА

Поставляемые материалы. В соответствии с заказом (см. раздел «Наличие»).

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки. Дополнительные питательные среды, реагенты, культуры микроорганизмов для контроля качества и лабораторное оборудование, необходимое для выполнения методики.

Методика тестирования. Соблюдайте асептическую методику работы.

Среды для анаэробной инкубации следует восстановить перед посевом, поместив неплотно закрытые пробирки на 18 – 24 ч в анаэробные условия. Эффективным и простым способом достижения необходимых анаэробных условий является использование анаэробной системы **GasPak EZ**. Жидкие среды можно также восстанавливать непосредственно перед использованием посредством кипячения с неплотно закрытыми крышками и охлаждения до комнатной температуры с плотно закрытыми крышками перед посевом. **ПРИМЕЧАНИЕ.** Для максимальной эффективности не кипятите пробирки более одного раза.

Засейте образец в требуемую среду сразу после его поступления в лабораторию. При работе с жидкими образцами среды в пробирках следует засеивать одним или двумя каплями образца. Образцы тканей следует порубить и протереть в стерильном восстановленном бульоне, например в обогащенной тиогликолятной среде Enriched Thioglycollate Medium, для культивирования микроорганизмов. После этого засеивание выполняется как для жидких образцов. После засеивания среды в чашках образцы мазков могут помещаться в бульон. Кроме того, тампон с мазком можно промыть в небольшом объеме стерильного восстановленного бульона, например в обогащенной тиогликолятной среде Enriched Thioglycollate Medium, после чего этот бульон используется для засева среды, как и в случае в жидкими образцами.

Образцы, для которых известно о наличии строгих анаэробных микроорганизмов или такое наличие подозревается, следует засеивать ближе ко дну пробирки. Инкубируйте при температуре 35 ± 2 °C или при другой подходящей температуре, желательно в анаэробных условиях.

Перед регистрацией отрицательного результата культуры в бульоне следует хранить не менее 1 недели.

Контроль качества

1. Проверьте пробирки на наличие признаков разложения в соответствии с описанием в разделе «Разложение продукта».
2. Проверьте эффективность путем засева репрезентативной выборки пробирок с чистыми культурами стабильных контрольных микроорганизмов, которые дают известные требуемые реакции. Рекомендуется использовать следующие культуры.

Среда	Тестовый штамм	Ожидаемые результаты
Все среды	<i>Bacteroides vulgatus</i>	Рост
	ATCC 8482	
	<i>Clostridium perfringens</i>	Рост
	ATCC 13124	

Следуйте требованиям контроля качества в соответствии с применимым местным, региональным и (или) федеральным законодательством, требованиями аккредитации и методиками контроля качества, принятыми в лаборатории. Пользователи должны сверяться с соответствующими руководствами Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США (CLSI) и положениями Закона о совершенствовании работы клинических лабораторий (CLIA).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Рост проявляется как помутнение по сравнению с незасеянной контрольной пробиркой.

Регистрируйте рост посредством окрашивания по Граму. Рекомендуется выполнять повторный посев на селективных и неселективных средах в чашках.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Обогащенные бульоны не должны использоваться в качестве единственной среды для изоляции. Их следует использовать в сочетании с селективными и неселективными средами в чашках для повышения вероятности выделения патогенов, особенно тех, которые присутствуют в небольшом количестве.

Для идентификации должны использоваться микроорганизмы чистой культуры. Для окончательной идентификации необходимо выполнять морфологические, биохимические и (или) серологические тесты.^{4,11,13-16}

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Перед выпуском все серии жидкой обогащенной тиогликолятной среды Fluid Thioglycollate Medium, Enriched проходят испытания на эффективность. Перед посевом репрезентативные образцы серии восстанавливаются путем нагревания на водяной бане не менее 10 минут и охлаждения. С помощью калиброванной петли вместимостью 0,01 мл пробирки засевают культурами, которые были приведены в соответствие с уровнем 0,5 единиц по стандарту мутности Макфарланда. Посевной материал для *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) и *Peptostreptococcus anaerobius* (ATCC 27337) готовится из колоний, выращенных на чашках с анаэробным агаром CDC с 5 % овечьей крови CDC Anaerobe 5% Sheep Blood Agar и приведенных к правильной концентрации посевного материала в предварительно восстановленной обогащенной тиогликолятной среде. Посевной материал для *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482) берется из обогащенной тиогликолятной среды Thioglycollate Medium, Enriched, а для *C. novyi* (ATCC 7659) — из глюкозного бульона с измельченным мясом Chopped Meat Glucose Broth, PR II. Пробирки засеваются ниже поверхности бульона, с наибольшим погружением в среду. Сразу же после засева крышки плотно завинчиваются, а затем пробирки инкубируются в аэробной атмосфере при 35 ± 2 °С. Пробирки проверяются на интенсивность роста через 18 – 24 ч и 42 – 48 ч. Все микроорганизмы проявляют рост (от умеренного до обильного) через 48 ч.

Перед выпуском все серии тиогликолятной среды с карбонатом кальция Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate проходят испытания на эффективность. Перед посевом репрезентативные образцы серии восстанавливаются путем нагревания на водяной бане не менее 10 минут и охлаждения. С помощью калиброванной петли вместимостью 0,01 мл пробирки засевают культурами, которые были приведены в соответствие с уровнем 0,5 единиц по стандарту мутности Макфарланда. Посевной материал для *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) готовится из колоний, выращенных на чашках с анаэробным агаром CDC с 5 % овечьей крови CDC Anaerobe 5% Sheep Blood Agar и приведенных к правильной концентрации посевного материала в предварительно восстановленной обогащенной тиогликолятной среде. Посевной материал для *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482) берется из обогащенной тиогликолятной среды Thioglycollate Medium, Enriched, а для *C. novyi* (ATCC 7659) — из глюкозного бульона с измельченным мясом Chopped Meat Glucose Broth, PR II. Пробирки засеваются ниже поверхности бульона, с наибольшим погружением в среду. Сразу же после засева крышки плотно завинчиваются, а затем пробирки инкубируются в аэробной атмосфере при 35 ± 2 °С. Пробирки проверяются на интенсивность роста через 18 – 24 ч и 42 – 48 ч. Все микроорганизмы проявляют рост (от умеренного до обильного) через 48 ч.

НАЛИЧИЕ

Кат. №.	Описание
297642	BBL Fluid Thioglycollate Medium, Enriched, 100 пробирок размера К в коробке. CE
298518	BBL Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate, 100 пробирок размера К в коробке. CE

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Brewer, J.H. 1940. A clear liquid medium for the "aerobic" cultivation of anaerobes. J. Bacteriol. 39:10.
2. Vera, H.D. 1944. A comparative study of materials suitable for the cultivation of clostridia. J. Bacteriol. 47:59-70.
3. Reischelderfer, C., and J.I. Mangels. 1992. Culture media for anaerobes, p.2.3.1-2.3.8. In H.D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 12th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
5. 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.
6. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
8. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
9. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
10. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p.0021-0045.
11. Rodloff, A.C., P.C. Applebaum, and R.J. Zabransky. 1991. Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology. Coordinating ed., A.C. Rodloff. American Society of Microbiology, Washington, D.C.
12. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1999. Specimen collection, transport, and storage, p. 33-63. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. 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.
14. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
15. 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.
16. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual of determinate bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

- Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Üretici / Proizvođač / Производител / Атқарушы
- Use by / Spottebujte do / Anvendes for / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes for / Stosować do / Utilizar em / Použít do / Usar antes de / Använd före / Исполняйте до / A se utiliza până la / Son kullanna tarihi / Upotrebiti do / Исползовать до / дейин пайдалануға / Uprziti biti do / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) / AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned) / JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) / AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) / VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) / AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) / JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) / EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) / ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) / AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) / MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mensesio pabaiga) / AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = sluttet av måneden) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) / AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiacu) / aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) / AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet på månaden) / ГТТГ-ММ-ДД / ГТТГ-ММ (ММ = края на месеца) / AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) / YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) / GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) / ГТТГ-ММ-ДД / ГТТГ-ММ (ММ = конец месяца) / ЖОЖОЖ-АА-КК / ЖОЖОЖ-АА (АА = айдың соңы)
- REF** Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalognummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numero / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog number / Kataloški broj / Номер по каталогу / Каталог номери
- EC REP** Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitadud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliojasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизирован представитель в EU / Reprezentant autorizat în Uniunea Europeană / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Ovlašćeni predstavnik u Evropskoj zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл
- IVD** In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniparatuur / Lääkinällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisais / In vitro diagnostisk medišinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicinska pomůcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostic Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики ин витро / Жасанды жагдайда жургізетін медициналық диагностика аспабы
- Temperature limitation / Teplotni omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimitet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hörmersékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ograničenje teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning / Температури ограничения / Limitare de temperatură / Sicaklık sınırlaması / Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу
- LOT** Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Număr lot (Lotul) / Parti Kodu (Lot) / Kod serije / Код партии (lot) / Топтама коды
- Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati útastást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları na başvurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз

Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

EC REP Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, BBL and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD