



**BBL Thioglycollate Medium,
Enriched with Vitamin K₁ and Hemin**
L007509 • Rev. 14 • Oktober 2015



KVALITETSKONTROLLPROSEDYRER (Valgfritt)

I INNLEDNING

Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K₁ and Hemin (tioglykollatmedium, tilsatt vitamin K₁ og hemin) er et universalmedium for dyrking av fastidøse og ikke-fastidøse mikroorganismer.

II YTELSESTESTPROSEDYRE

1. Rør med mediet reduseres ved koking* med løse lokk. Fest lokkene straks etter koking, og la rørene bli avkjølt til romtemperatur.

***MERK:** Bruk av mikrobølgeovn anbefales ikke.

2. Klargjøring av inokuleringsmateriale

Bruk en 48- til 72-timers kultur av Enriched Thioglycollate Medium (tioglykollatmedium med tilsetning), Chopped Meat Medium (medium av malt kjøtt) eller kolonier fra en plate av CDC Anaerobe 5% Sheep Blood Agar (CDC anaerob 5 % saueblodagar), som er blitt overført til et forhåndsredusert rør med Enriched Thioglycollate Medium, og juster til en turbiditet som tilsvarer en 0,5 McFarland-standard.

3. Bruk en steril 0,01 mL kalibrert løkke, og inokuler rør fra det standardiserte inokuleringsmaterialet for hver organisme.

4. Inkuber rør ved 35 ± 2 °C i en aerob atmosfære med tette lokk.

5. Undersøk rørene etter 18 – 24 timer og 42 – 48 timer for vekst.

6. Forventede resultater

CLSI-organismer	ATCC	Restituering
* <i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	27337	Vekst
* <i>Bacteroides vulgatus</i>	8482	Vekst
* <i>Clostridium perfringens</i>	13124	Vekst
Tilleggsorganismer		
<i>Porphyromonas levii</i>	29147	Vekst
<i>Clostridium novyi A</i>	7659	Vekst

*Anbefalt organismestamme for kvalitetskontroll for brukere.

III TILLEGGSKVALITETSKONTROLL

1. Undersøk rørene som beskrevet under "Produktforringing".

2. Undersøk de representative rørene visuelt for å sikre at eventuelle fysiske defekter ikke vil påvirke bruken.

3. Mål pH potensiometrisk ved romtemperatur for overholdelse av spesifikasjonen til 7,0 ± 0,2.

4. Inkuber uinokulerte representative rør ved 20 – 25 °C og 30 – 35 °C og kontroller etter 7 dager for mikrobiell kontaminasjon.

PRODUKTINFORMASJON

IV BRUKSOMRÅDE

Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K₁ and Hemin er et universalmedium som brukes i kvalitative prosedyrer eller til dyrking av fastidøse og ikke-fastidøse mikroorganismer, inkludert aerobe og anaerobe bakterier, fra ulike kliniske og ikke-kliniske materialer.

V SAMMENDRAG OG FORKLARING

Enriched Thioglycollate Medium er **BBL** Thioglycollate Medium without Indicator-135C (tioglykollatmedium uten indikator 135C) supplert med vitamin K₁ og hemin.¹⁻³ Buljongmediet med tilsetning er anbefalt for bruk til isolering og dyrking av fastidøse eller langsomtvoksende obligat anaerobe mikroorganismer som finnes i kliniske materialer.^{4,5} Det anbefales også for isolering og dyrking av et bredt utvalg av aerobe og fakultativt anaerobe mikroorganismer. Mediet er preparert med et anaerobt rom over væsken og leveres i rør med skrukork i samsvar med anbefalinger fra CDC.⁴ Det er påvist at vitamin K₁ og hemin er nødvendig for vekst hos visse anaerobe organismer.^{6,7}

Isolering av mikroorganismer fra kliniske materialer krever ofte bruk av buljongmedier med tilsetning i tillegg til de selektive, differensierende og ikke-selektive platemediene som normalt brukes til primær isolasjon. Bruk av flytende "reservemedier" reduserer muligheten for totalt å overse et etiologisk materiale som finnes i lavt antall, vokser langsomt på platemedier, er følsomt overfor selektive stoffer eller er følsomt overfor ugunstige inkubasjonsbetingelser, f.eks. utilstrekkelige anaerobe livsfunksjoner for optimal vekst av obligat anaerobe organismer.

VI PROSEDYREPRINSIPPER

Natrium-tioglykollat er et reduksjonsmiddel som opprettholder lavt oksygentrykk i mediet. Vitamin K₁ er nødvendig for vekst hos visse stammer av *Prevotella melaninogenica*⁶, og det er rapportert at det fremmer veksten av noen stammer av *Bacteroides*-arter og gram-positive ikke-sporedannende organismer.⁸ Hemin er kilden til faktor X, som stimulerer veksten hos mange mikroorganismer.

VII REAGENSER

Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K₁ and Hemin

Omtrentlig sammensetning* per liter renset vann

Pankreatisk fordøyelse av kasein	17,0 g	Agar	0,7 g
Papaisk fordøyelse av soyamel	3,0 g	L-cystin	0,25 g
Dekstrose	6,0 g	Natriumsulfitt	0,1 g
Natriumklorid	2,5 g	Hemin	0,005 g
Natriumtioglykolat	0,5 g	Vitamin K ₁	0,001 g

*Justert og/eller supplert etter behov for å oppfylle ytelseskriteriene.

Advarsler og forsiktighetsregler: For *in vitro*-diagnostisk bruk.

På grunn av den potensielle forekomsten av ikke-levedyktige organismer i kulturmediet må det utvises forsiktighet ved rapportering av resultater av direkte gramfarging og/eller andre resultater av direkte mikrobiologiske farging på vevsprøver som er behandlet med dette mediet.

Rør med tette korker skal åpnes forsiktig for å unngå skade som følge av knust glass.

Patogene mikroorganismer, blant annet hepatittvira og humant immunsviktvirus, kan være til stede i kliniske prøver. "Standard forsiktighetsregler"⁹⁻¹² og institusjonelle retningslinjer skal følges ved håndtering av alt materiale kontaminert med blod og andre kroppsvæsker. Alle ferdiglagde agarrør, prøvebeholdere og annet kontaminert materiale må steriliseres ved autoklaving etter bruk, før de avfallsbehandles.

Oppbevaringsinstruksjoner: Etter mottak oppbevares rørene i mørke ved 2 – 8 °C. Unngå frysing og overoppheting. Må ikke åpnes før de er klare til bruk. Utsettes for minst mulig lys. Rørmedier, oppbevart som angitt før bruk, kan inokuleres opptil utløpsdato og inkuberes som anbefalt. La mediet få romtemperatur før inokulering.

Produktforringelse: Ikke bruk rørene dersom de viser tegn på mikrobiell kontaminering, misfarging, uttørring eller andre tegn på forringelse.

VIII PRØVEINNSAMLING OG HÅNDTERING

Prøver egnet for dyrking kan håndteres ved hjelp av forskjellige teknikker. Se relevante tekster for detaljert informasjon.^{13,14}

Prøver skal innhentes før antimikrobielle midler er blitt administrert. Det må legges til rette for umiddelbar levering til laboratoriet.

IX PROSEDYRE

Materiale som følger med: Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K₁ and Hemin

Nødvendige materialer som ikke følger med: Supplerende vekstmedier, reagenser, kvalitetskontrollorganismer og laboratorieutstyr etter behov.

Testprosedyre: Bruk aseptisk teknikk.

Medier i væskeform til anaerob inkubering skal reduseres før inokulering ved å sette rørene, med løsnede korker, under anaerobe forhold i 18 – 24 timer før bruk. En effektiv og enkel måte å oppnå egnede anaerobe forhold på er ved bruk av **BD GasPak EZ** anaerobt system. Alternativt kan medier i væskeform reduseres rett før bruk ved å koke dem* med løsnede korker og deretter kjøle dem ned til romtemperatur med lukkede korker før inokulering.

Inokuler prøven i foretrukket medium så snart den ankommer laboratoriet. Ved bruk av prøver i væskeform, skal medier på rør inokuleres med én eller to dråper av prøven. Vevsprøver skal deles opp og dyrkes i steril redusert buljong, for eksempel Enriched Thioglycollate Medium til dyrking av mikroorganismer. Inokulering blir deretter utført som for flytende prøver. Penselprøver kan settes inn i vekstmediet etter inokulering av mediumskåler. Alternativt kan penselen "gnis" i et lite volum av steril, redusert buljong, for eksempel Enriched Thioglycollate Medium, og buljongen kan brukes til å inokulere medier slik det gjøres for flytende prøver.

Prøver med kjent innhold av eller mistanke om innhold av obligat anaerobe organismer skal inokuleres nær bunnen av røret. Inkuber rør med tette korker i aerob atmosfære ved 35 ± 2 °C eller annen egnet temperatur.

Buljongkulturer skal opprettholdes minst 1 uke før de kasseres som negative.¹⁵

***MERK:** Bruk av mikrobølgeovn anbefales ikke.

Kvalitetskontroll utført av brukeren: Se "Kvalitetskontrollprosedyrer".

Hver lot av mediet er blitt testet ved bruk av egnede kvalitetskontrollorganismer, og denne testingen oppfylder produktspesifikasjoner og CLSI-standarder der det er relevant. Som alltid skal kvalitetskontrolltesting utføres i henhold til gjeldende lokale eller nasjonale forskrifter, akkrediteringskrav og/eller laboratoriets standardprosedyrer for kvalitetskontroll.

En enkeltelektrode som er liten nok til å passe i rørene, skal brukes til å måle pH potensiometrisk av medier på rør. Spissen på elektroden skal plasseres under overflaten av vekstmedier.

X RESULTATER

Vekst i inokulatvekstmediet på rør, som Enriched Thioglycollate Medium, indikeres av nærvær av turbiditet sammenlignet med en uinokulert kontroll.

Hvis det fremvises vekst, skal kulturer undersøkes ved hjelp av gramfarging og subkultiveres både til selektive og ikke-selektive medier. Hvis det er mistanke om anaerobe organismer, skal underkulturer også dyrkes på passende anaerobe platemedier.

XI BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN

Anaerobe organismer kan bli utkonkurrert av fakultative organismer som vokser raskere. Undersøk og foreta gramfarging av buljong hvis platemediet ikke viser vekst. Ikke stol kun på buljongkulturer for isolasjon av anaerobe organismer. Noen anaerobe organismer kan bli hemmet av metabolismeprodukter eller syrer som dannes av fakultativt anaerobe organismer som vokser raskere.¹⁵

For identifisering må organismer være i ren kultur. Morfologiske, biokjemiske og/eller serologiske tester skal utføres for endelig identifisering. Se relevante tekster for detaljert informasjon og anbefalte prosedyrer.^{13,14,16}

Kulturmedier kan inneholde døde organismer fra innholdsstoffene i mediet, som kan være synlige i utstryk fra kulturmedier. Andre kilder for døde organismer som er synlige ved gramfarging omfatter fargestoffer, immersjonsolje, objektglass og prøver brukt til inokulering. Hvis det foreligger usikkerhet om gyldigheten av gramfargingen, skal kulturen inkuberes på nytt i en time eller to til og testen gjentas før en rapport avlegges.

XII YTELSESEGNSKAPER

Før frigivelse testes alle lot-er med Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K₁ and Hemin for egenskaper ved prøveutførelsen. Før inokulering skal representative prøver av lot-en reduseres ved koking i et vannbad i minst 10 minutter og kjøles. Bruk en 0,01 mL kalibrert løkke, og inokuler rør med kulturer som er justert til en turbiditetsstandard på 0,5 McFarland. Inokuleringsmaterialet for *Porphyromonas levii* (ATCC 29147), *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) og *Peptostreptococcus anaerobius* (ATCC 27337) er fremstilt fra kolonier som er dyrket på plater med CDC Anaerobe 5% Sheep Blood Agar og justert til korrekt inokuleringsmaterialekonsentrasjon i forhåndredusert Thioglycollate Medium, Enriched. Inokuleringsmaterialet for *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482) er hentet fra Thioglycollate Medium, Enriched, og inokuleringsmaterialet for *C. novyi* A (ATCC 7659) er hentet fra Chopped Meat Glucose Broth (buljong av malt kjøtt og glukose), PR II. Rørene inokuleres under overflaten av buljongen og så dypt nede i mediet som mulig. Løkene festes straks etter inokulering, og rørene inkuberes aerobt ved 35 ± 2 °C. Rør avleses for mengden vekst etter 18 – 24 t og 42 – 48 t. Alle organismer vises spor av vekst til sterk vekst etter 48 t.

XIII TILGJENGELIGHET

Kat. nr.	Beskrivelse
221742	BD BBL Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K ₁ , and Hemin, 5 mL
221787	BD BBL Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K ₁ , and Hemin, 8 mL
221788	BD BBL Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K ₁ , and Hemin, 8 mL
297292	BD BBL Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K ₁ , and Hemin, 10 mL

XIV REFERANSER

1. Brewer, J.H. 1940. A clear liquid medium for the "aerobic" cultivation of anaerobes. J. Bacteriol. 39:10.
2. Vera, H.D. 1944. Comparative study of materials suitable for the cultivation of clostridia. J. Bacteriol. 47:59-65.
3. Dowell, V.R., Jr., and T.M. Hawkins. 1987. Laboratory methods in anaerobic bacteriology. CDC laboratory manual. HHS Publication No. (CDC) 87-8272. Centers for Disease Control, Atlanta.
4. Dowell, V.R., Jr., G.L. Lombard, F.S. Thompson, and A.Y. Armfield. 1977. Media for isolation, characterization, and identification of obligately anaerobic bacteria. CDC laboratory manual. Center for Disease Control, Atlanta.
5. Forbes, B.A., and P.A. Granato. 1995. Processing specimens for bacteria, p. 265-281. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. 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.
7. Wilkins, T.D., S.L. Chalgren, F. Jimenez-Ulate, C.R. Drake, Jr., and J.L. Johnson. 1976. Inhibition of *Bacteroides fragilis* on blood agar plates and reversal of inhibition by added hemin. J. Clin. Microbiol. 3:359-363.
8. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 365-375. In E.H. Lennette, G.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller (ed.). 2007. Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 12th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
15. Reischelderfer, C., and J.I. Mangels. 1994. 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.
16. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

Teknisk service og støtte for BD Diagnostics: ta kontakt med din lokale BD-representant eller gå til www.bd.com/ds.



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



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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD