

KVALITETSKONTROLPROCEDURER

I INDLEDNING

Chopped Meat Carbohydrate Broth, PR II (præreduceret medium i Hungate-glas) er et universalmedium til berigelse og dyrkning af anaerobe mikroorganismer, især obligate anaerobes.

II PROCEDURE FOR FUNKTIONSTEST

1. Klargør 24 – 48 t CDC Anaerobic Blood Agar-kulturer af testorganismerne.
2. Inokuler repræsentative prøver ved hjælp af en sprøjte med 0,1 mL f. organismesuspensioner fortyndet i præreduceret Schaedler Broth, for at opnå 10^3 – 10^4 CFU'er/0,1 mL.
3. Inkubér glassene ved 35 ± 2 °C i omgivende atmosfære og undersøg for vækst ved 18 – 24 t og 66 – 72 t.
4. Forventede resultater

Organismer	ATCC	Isolering
* <i>Clostridium perfringens</i>	13124	Moderat til kraftig vækst
* <i>Porphyromonas levii</i>	29147	Moderat til kraftig vækst

* Anbefalet organismestamme til bruger kvalitetskontrol

III YDERLIGERE KVALITETSKONTROL

1. Undersøg glassene for tegn på forringelse, som beskrevet i "Produktforringelse".
2. Undersøg visuelt repræsentative glas for at sikre, at eventuelle eksisterende fysiske defekter ikke påvirker anvendelsen.
3. Inkubér ikke-inokulerede repræsentative glas ved 20 – 25 °C og 30 – 35 °C, og undersøg for mikrobiel kontaminering efter 7 dage.

PRODUKTOPLYSNINGER

IV TILSIGTET BRUG

Chopped Meat Carbohydrate Broth, PR II er et universalmedium til berigelse og dyrkning af anaerobe mikroorganismer, især obligate anaerobes.

V RESUMÉ OG FORKLARING

Chopped Meat Carbohydrate Broth, PR II (præreduceret) er et universelt berigelsesmedium, der understøtter vækst af de fleste anaerobes, udgør en backup-kilde med dyrkningsmateriale, hvis en anaerob krukke eller et anaerobt kammer svigter, samt til berigelse af små antal af organismer.¹ Det kan anvendes til subkultur og berigelse af anaerobe isolater med henblik på kromatografisk analyse og tests til bestemmelse af proteolyse (kødfordøjelse), sporedannelse, motilitet og toksinproduktion, især hos *Clostridium*-arter, og som vedligeholdelsesmedium til opbevarings- eller stamkulturer.²

Anvendelsen af Chopped Meat Carbohydrate Broth, PR II baserer sig på Hungates metoder til dyrkning af anaerobe mikroorganismer uden for et anaerobt kammer.³ Glassene indeholder et reduceret medium i et selvstændigt glas med anaerob kultur, der er lukket med et Hungate-skruelåg. Låget indeholder en membranprop af butylgummi, der muliggør inokulering og inkubering uden at udsætte mediet for luft.

VI PROCEDURENS PRINCIPPER

Præreduceret medium tilvejebringer en anaerob nitrogen- og hydrogenatmosfære. Glassene er pakket under oxygenfri betingelser og er forseglet for at forhindre aerobiose.

Chopped meat-pellets og enzymatisk fordøjelse af kasein tilvejebringer aminosyrer og andre kvælstofholdige stoffer til understøttelse af bakterievækst. Gærestrakt tilvejebringer primært B-vitaminkomplekser, glukose er en kilde til energi, og fosfat er tilsat for at opretholde mediets pH. Cellobiose, maltose og stivelse tilvejebringer yderligere energikilder. Hæmin og K-vitamin₁ kræves af visse anaerobe arter for at kunne vokse og kan øge væksten af andre arter⁴

Kødpartikelnes og L-cysteinets reducerende effekt binder molekylært oxygen. De reducerende midler kræves for at opretholde et lavt Eh. Resazurin er en oxidationsreduktionsindikator, der anvendes til at registrere ændringer i mediets Eh. Mediet forbliver farveløst, hvis Eh forbliver lav. Højere oxidation gør, at mediet bliver lyserødt.

VII REAGENSER

Chopped Meat Carbohydrate Broth, PR II

Omtrentlig formel* pr. liter rensat vand

Chopped Meat-pellets.....	10,2 g	Maltose.....	1,0 g
Pankreatisk fordøjelse af kasein.....	30,0 g	Stivelse.....	1,0 g
Gærestrakt.....	5,0 g	L-Cystein HCl.....	0,5 g
Glukose.....	4,0 g	Resazurin.....	0,001 g
Dikaliumfosfat.....	5,0 g	K-vitamin ₁	1,0 mg
Cellobiose.....	1,0 g	Hæmin.....	5,0 mg

*Justeret og/eller suppleret, som krævet for at opfylde funktionskriterierne.

Advarsler og forholdsregler: Til *in vitro*-diagnostik.

Dette produkt indeholder tørt naturgummi.

Glas med stramme hætter skal åbnes forsigtigt for at undgå personskafe pga. knust glas.

Overhold aseptiske teknikker og fastlagte forholdsregler mod mikrobiologiske farer under alle procedurer. Sterilisér præparerede glas, prøvebeholdere og andre kontaminerede materialer efter brug ved autoklavering, inden de bortskaffes.

Opbevaringsinstruktioner: Efter modtagelsen skal glassene opbevares mørkt ved 2 – 25 °C. Undgå nedfrysning og overophedning. Må ikke åbnes inden brugstidspunktet. Minimer udsættelsen for lys. Medier i glas, der har været opbevaret i henhold til anvisningerne på etiketten indtil umiddelbart inden brug, kan inokuleres frem til udløbsdatoen og inkuberes i de anbefalede inkubationstidsrum. Lad mediet opnå stuetemperatur inden inokulering.

Produktnedbrydning: Glassene må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering eller andre tegn på nedbrydning.

Glassene skal kasseres, hvis mere end en tredjedel af mediet bliver oxideret (lyserødt).

VIII PRØVEINDSAMLING OG -HÅNDTERING

Dette medium er ikke beregnet til direkte brug med prøver med undtagelse af som "back-up"-berigelsesbouillon som tillæg til primære plademedier. Der henvises til den relevante litteratur for oplysninger.^{1,5}

IX PROCEDURE

Vedlagte materialer: Chopped Meat Carbohydrate Broth, PR II

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt: Hjælpedyrkningsmedier, reagenser, organismer til kvalitetskontrol og nødvendigt laboratorieudstyr.

Testprocedure: Overhold aseptisk teknik.

Lågets membran skal desinficeres inden inokulering. Inokulering udføres ved at stikke kanylen gennem membranen, hvorefter prøven injiceres ind i mediet. Træk kanylen langsomt ud for at undgå at introducere luft i glasset.

Organismer til subkultur i dette medium skal først isoleres i ren kultur på et passende, fast medium. Klargør en suspension af den rene kultur i 0,5 til 1,0 mL steril reduceret bouillon, og inokuler glasset med en eller to dråber.

Til berigelsesformål inokuleres det præreducerede medium med en eller to dråber af prøven efter inokulering med et passende primært plademedium. Klargør væv og andre faste prøver ved at findele og formale prøven i 0,5 til 1,0 mL steril reduceret bouillon, og inokulere glasset med en eller to dråber.

Inkubér glassene ved 35 ± 2 °C i op til en uge, før en prøve kasseres som negativ. Ved mistanke om actinomycose, osteomyelitis, endocarditis og andre alvorlige infektioner inkuberes glassene i op til 2 uger, før en prøve kasseres som negativ.

Bruger kvalitetskontrol: Se "Kvalitetskontrolprocedurer".

Kvalitetskontrol skal finde sted i overensstemmelse med gældende lokale eller statslige bestemmelser eller akkrediteringskrav og laboratoriets rutinemæssige kvalitetskontrolprocedurer. Det anbefales, at brugeren læser de relevante CLSI-retningslinjer og CLIA-regulativer, for så vidt angår passende kvalitetskontrolprocedurer.

X RESULTATER

Undersøg mediet for sortfarvning af kødpartikler, som indikerer fordøjelse. Se referencematerialet for oplysninger vedr. kromatografisk analyse og tests for indolproduktion, toksinproduktion og sporedannelse.⁵⁻⁸

XI PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Berigelsesbouillon må ikke anvendes som enkeltstående isoleringsmedium. De er beregnet til brug sammen med selektive og ikke-selektive plademedier for at øge muligheden for at isolere patogener, særligt når disse er til stede i små mængder.

Organismer skal være i ren dyrkning, så de kan identificeres. Der bør foretages morfologiske, biokemiske og/eller serologiske test for at få en endelig identifikation.⁵⁻¹⁰

XII FUNKTIONSDATA

Før de frigives til salg, testes alle lot af Chopped Meat Carbohydrate Broth, PR II for funktionsdata. Repræsentative prøver fra lottet inokuleres direkte med en kanylen og 0,1 mL *Porphyromonas levii* ATCC 29147 og *Clostridium perfringens* ATCC 13124 dyrket i BBL Schaedler Broth og fortyndet for at give 10³ – 10⁴ CFU'er/0,1 mL. Glassene inkuberes ved 35 ± 2 °C i en omgivende atmosfære i op til tre dage. Der ses moderat til kraftig vækst med begge organismer.

XIII BESTILLING

Kat. nr.	Beskrivelse
----------	-------------

297307	BBL Chopped Meat Carbohydrate Broth, PR II, 5 mL, karton med 10 størrelse K glas
--------	--

XIV LITTERATUR

1. 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.
2. Onderdonk, A.B., and S.D. Allen. 1995. *Clostridium*, p. 574-586. *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.
3. Hungate, R.E. 1969. A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. Methods in microbiology. Academic Press, New York.
4. 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.
5. Rodloff, A.C., P.C. Applebaum, and R.J. Zabransky. 1991. Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology. Coordinating ed. A.C. Rodloff, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. 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.
7. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
8. 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.
9. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1999. Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. 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.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds



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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD