

KVALITETSKONTROLLPROSEDYRER**I INNLEDNING**

Schaedler Broth with Vitamin K₁ (Schaedler-buljong med vitamin K₁) er et anrikt universalmedium for dyrking av fastidiøse aerobe og anaerobe mikroorganismer.

II YTELSESTESTPROSEDYRE

1. Varm opp rør i kokende vann* og la dem kjøle med lokkene på før bruk.

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

2. Inokuler representative prøver med kulturene oppgitt nedenfor.

a. Inokuler rør med 1,0 mL av fortynninger som inneholder 1000 eller færre CFU/mL for alle organismer unntatt *Clostridium novyi* A. For *C. novyi* A skal rør inokuleres med 1,0 mL av fortynninger som inneholder 1×10^5 til 1×10^6 CFU/mL. Klargjør fortynningene ved å bruke 18- til 24-timers kulturer i **Trypticase** Soy Broth (trypticasesoyabuljong) av *Staphylococcus*- og *Streptococcus*-stammer og 18- til 24-timers kulturer i Chopped Meat Carbohydrate Broth PR II (hakket-kjøtt-karbohydratbuljong PR II) for resten av organismene.

b. Inkuber rør med løsnede lokk ved 35 ± 2 °C i en aerob atmosfære (*Staphylococcus*- og *Streptococcus*-stammer) og i en anaerob atmosfære tilsatt karbondioksid, for eksempel levert fra **BD GasPak EZ** anaerobt system (obligat anaerobe organismer).

3. Undersøk rørene for vekst etter 7 dager.

4. Forventede resultater

Organismer	ATCC	Gjenvinning
<i>*Peptostreptococcus anaerobius</i>	27337	Vekst
<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	Vekst
<i>*Clostridium novyi</i> A	7659	Vekst
<i>*Staphylococcus aureus</i>	25923	Vekst
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	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. Inkuber uinokulerte representative rør ved 20 – 25 °C og 30 – 35 °C og kontroller etter 7 dager for mikrobiell kontaminasjon.

PRODUKTINFORMASJON**IV BRUKSOMRÅDE**

Schaedler Broth brukes til å dyrke fastidiøse aerobe og anaerobe mikroorganismer.

V SAMMENDRAG OG FORKLARING

Schaedler et al.¹ utviklet flere mediaformuleringer for dyrking av fastidiøse anaerobe mikroorganismer som lactobacilli, streptococci, clostridia og *Bacteroides*. Mata og samarbeidspartnere² modifiserte Schaedler-mediene ved å justere peptoninnholdet, øke konsentrasjonen av natriumklorid, redusere mengden av dekstrose og redusere nivået av gjærekstrakt.³ Schaedler Broth har samme formulering som Schaedler Agar, bortsett fra at agaren er utelatt.

VI PROSEDYREPRINSIPPER

Dette mediet er svært næringsrikt på grunn av innholdet av peptoner, dekstrose og gjærekstrakt. Hemin står for X-faktoren som kreves av mange fastidiøse organismer. Bruk av vitamin K₁, som en tilsetning muliggjør dyrking av *Prevotella melaninogenica* og stimulerer andre *Bacteroides*-arter og grampositive ikke-sporedannende organismer.^{4,5} Typen organismer som ble gjenvunnet i dette flytende mediet, er avhengig av inkubasjonsmiljøet (aerobt, aerobt supplert med karbondioksid, eller anaerobe betingelser).

VII REAGENSER

Schaedler Broth with Vitamin K₁

Omtrentlig formulering* per liter renset vann

Nedbrutt kasein fra bukspyttkjertel	8,2 g	Dikaliumfosfat	0,8 g
Peptider fra nedbrytning av dyrevev	2,5 g	L-cystin	0,4 g
Soyamel nedbrutt med papain	1,0 g	Hemin	0,01 g
Dekstrose	5,8 g	Vitamin K ₁	0,01 g
Gjærekstrakt	5,0 g	Tris-(hydroksymetyl)-aminometan	3,0 g
Natriumklorid	1,7 g		

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

Advarsler og forholdsregler: Til *in vitro*-diagnostisk bruk.

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

Patogene mikroorganismer, blant annet hepatittvirus og HIV, kan være til stede i kliniske prøver. Standard forholdsregler⁶⁻⁹ og institusjonens retningslinjer skal følges ved håndtering av alle gjenstander som er kontaminert med blod og andre kroppsvæsker. Alle ferdiglagde agarrør, prøvebeholdere og annet kontaminert materiale må steriliseres ved autoklaving etter bruk, før de avfallsbehandles.

Oppbevaringsinstruksjoner: Oppbevar rørene i mørke ved 2 – 8 °C etter mottak. Unngå frysing og overoppheting. Må ikke åpnes før de er klare til bruk. Utsettes for minst mulig lys. Rørmedier som har vært oppbevart i henhold til merkingen frem til like før bruk, kan inkuberes frem til utløpsdato og inkuberes i den anbefalte inkubasjonstiden. La mediet få romtemperatur før inkulering.

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

VIII PRØVEINNSAMLING OG HÅNDTERING

Prøver egnet for dyrking kan håndteres ved hjelp av forskjellige teknikker. For detaljerte opplysninger, se aktuell litteratur.^{10,11} Prøver skal tas før antimikrobielle agenser er blitt administrert. Det må legges til rette for umiddelbar levering til laboratoriet.

IX PROSEDYRE

Materiale som følger med: Schaedler Broth with Vitamin K₁

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

Testprosedyre: Bruk aseptisk teknikk.

Inokuler prøven direkte i buljongmediet.

Flytende medium for anaerob inkubasjon skal reduseres før inkulering ved å plassere rørene, med løsnede lokk, under anaerobe betingelser (**BD GasPak EZ** anaerob system eller tilsvarende) i 18 – 24 timer før bruk. Alternativt kan flytende medier reduseres rett før bruk ved å koke* dem med løsnede korker og deretter kjøle dem ned til romtemperatur med lukkede korker før inkulering.

Inkuber rør og/eller flasker ved 35 ± 2 °C i passende atmosfære (aerob, anaerob eller tilsatt karbondioksid) i opptil 7 dager.

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

Kvalitetskontroll for brukere: Se "Kvalitetskontrollprosedyrer".

Kvalitetskontrollkrav må ivaretas i samsvar med gjeldende lokale og/eller nasjonale forskrifter eller godkjenningsskrav og laboratoriets standardprosedyrer for kvalitetskontroll. Det anbefales at brukeren refererer til aktuelle CLSI-retningslinjer og CLIA-regler for egnede kvalitetskontrollprosedyrer.

X RESULTATER

Vekst i rørene indikeres av forekomst av turbiditet sammenlignet med en uinokulert kontroll.

Hvis det forekommer vekst, skal kulturer undersøkes ved hjelp av gramfarging og dyrking i underkultur på et egnet medium (bl.a. TSA II og/eller Chocolate II Agar-plate (sjokolade-II-agarplate), LEMB Agar- eller MacConkey II Agar-plate osv.). Hvis det er mistanke om obligat anaerobe organismer, skal underkulturer inkuberes anaerobt (**BD GasPak EZ** anaerob system).

XI BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN

For identifisering må organismer være i ren kultur. Morfologiske, biokjemiske og/eller serologiske tester skal utføres for endelig identifisering. Se aktuell litteratur for detaljert informasjon og anbefalte prosedyrer.¹⁰⁻¹²

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 inkulering. 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 YTELSESKARAKTERISTIKK

Stalons et al.¹³ fant at Schaedler Broth er det mest effektive mediet av ni buljongmedier som ble testet for vekst av obligat anaerobe bakterier når de ble inkubert i en anaerob atmosfære.

XIII TILGJENGELIGHET

Kat. nr.	Beskrivelse
221541	BD BBL Schaedler Broth with Vitamin K ₁ , pk. à 10 rør med størrelse K
221542	BD BBL Schaedler Broth with Vitamin K ₁ , kart. à 100 rør med størrelse K

XIV REFERANSER

1. Schaedler, R.W., R. Dubos, and R. Costello. 1965. The development of the bacterial flora in gastrointestinal tract of mice. *J. Exp. Med.* 122:59-66.
2. Mata, L.J., C. Carrillo, and E. Villatoro. 1969. Fecal microflora in healthy persons in a preindustrial region. *Appl. Microbiol.* 17:596-602.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
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. 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, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
7. 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.
8. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
9. 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.
10. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
12. 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.
13. Stalons, D.R., C. Thornsberry, and V.R. Dowell, Jr. 1974. Effect of culture medium and carbon dioxide concentration on growth of anaerobic bacteria commonly encountered in clinical specimens. *Appl. Microbiol.* 27:1098-1164.

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