

# **BD Terreni BBL in provetta pronti per l'uso per la coltivazione di microrganismi anaerobi** **Thioglycollate Media**

 8807191JAA(01)  
2013-11  
Italiano

## **USO PREVISTO**

Fluid Thioglycollate Medium, Enriched (terreno tiogliccolato fluido, arricchito) è un terreno universale per la coltivazione di un'ampia gamma di microrganismi, in particolare anaerobi obbligati.

Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate (terreno tiogliccolato con carbonato di calcio) è anche raccomandato per la conservazione di colture stock.

## **SOMMARIO E SPIEGAZIONE**

Il terreno tiogliccolato è stato originariamente descritto da Brewer come terreno in grado di favorire la crescita di microrganismi anaerobi obbligati e aerobi.<sup>1</sup> In seguito, sono state formulate numerose versioni del terreno.

L'incorporazione del carbonato di calcio è raccomandata perché, in caso contrario, i microrganismi esigenti possono crescere e quindi morire rapidamente e serve a neutralizzare l'acido prodotto durante la crescita.<sup>2,3</sup>

## **PRINCIPI DELLA PROCEDURA**

I peptoni di soia e caseina ed L-cistina forniscono aminoacidi e altre sostanze azotate per supportare la crescita batterica. L'estratto di lievito fornisce le vitamine del complesso B. Il cloruro di sodio fornisce gli ioni essenziali. Il destrosio è una fonte di energia.

Fluid Thioglycollate Medium, Enriched è supplementato con emina e vitamina K<sub>1</sub> per migliorare la crescita di alcuni batteri anaerobi.<sup>3-5</sup>

Il carbonato di calcio migliora la conservazione di colture stock neutralizzando gli acidi prodotti durante la crescita.<sup>3</sup>

L'azione riducente esercitata da tiogliccolato di sodio e solfito di sodio lega l'ossigeno molecolare, mantenendo così un basso Eh.<sup>6</sup> Viene aggiunta una piccola quantità di agar per ritardare l'assorbimento dell'ossigeno, riducendo le correnti di convezione nel terreno.<sup>6</sup>

La resazurina è un indicatore usato per rilevare le variazioni di Eh.<sup>3</sup> Un aumento di ossidazione fa salire Eh, facendo virare la resazurina al rosa. Se Eh rimane basso, l'indicatore resta incolore.

## **REAGENTI**

### **Fluid Thioglycollate Medium, Enriched**

Formula approssimativa\* in un litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina .....	15,0 g
L-cistina .....	0,5 g
Destrosio .....	5,0 g
Estratto di lievito .....	5,0 g
Cloruro di sodio .....	2,5 g
Tiogliccolato di sodio .....	0,5 g
Resazurina .....	0,001 g
Agar .....	0,75 g
Emina .....	0,1 g
Vitamina K <sub>1</sub> .....	2,0 mg

### **Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate**

Formula approssimativa\* in un litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina .....	17,0 g
Digerito papainico di farina di soia .....	3,0 g
Destrosio .....	6,0 g
Cloruro di sodio .....	2,5 g
Tiogliccolato di sodio .....	0,5 g
Agar .....	0,7 g
Solfito di sodio .....	0,1 g
Microsfera di marmo .....	1 per provetta

\*Formulazione aggiustata e/o supplementata per soddisfare i criteri prestazionali.

### **Avvertenze e precauzioni:** per uso diagnostico *in vitro*.

Prestare attenzione nel refertare i risultati della colorazione di Gram e/o altri risultati di colorazione microbiologica diretta su campioni di tessuto trattati con questo terreno, in quanto è possibile la presenza di organismi non vitali nel terreno di coltura.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi corporei conformemente alle "Precauzioni standard"<sup>7-10</sup> e alle norme del laboratorio.

Aprire con estrema cautela le provette con i tappi serrati allo scopo di evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.

**Modalità di conservazione:** al ricevimento, conservare le provette al buio secondo le istruzioni riportate sull'etichetta. Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. I terreni in provetta conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno sia a temperatura ambiente.

**Deterioramento del prodotto:** non usare le provette se presentano evidenze di contaminazione microbica, evaporazione o altri segni di deterioramento.

Gettare le provette di Fluid Thioglycollate Medium, Enriched in caso di ossidazione di oltre un terzo del terreno, evidenziata da decolorazione con viraggio al rosa.

#### RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Questi terreni non sono destinati a essere usati direttamente con campioni clinici, se non allorché impiegati come brodo di arricchimento di "backup" in aggiunta ai terreni di isolamento primario. Per informazioni, consultare la documentazione appropriata.<sup>4,11,12</sup>

#### PROCEDURA

**Materiale fornito:** come ordinato (vedere "DISPONIBILITÀ").

**Materiali necessari ma non forniti** – Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie per questa procedura.

**Procedura del test:** adottare tecniche aseptiche.

I terreni per incubazione in anaerobiosi devono essere ridotti prima dell'inoculo ponendo le provette, con i tappi non completamente avvitati, in anaerobiosi per 18 – 24 h prima dell'uso. Un modo semplice ed efficace per ottenere condizioni di anaerobiosi adatte è l'uso del sistema per anaerobiosi **GasPak EZ**. In alternativa, il terreno liquido può essere ridotto immediatamente prima dell'uso bollendo le provette con i tappi non completamente avvitati e lasciandole raffreddare con i tappi serrati a temperatura ambiente prima dell'inoculo. **N.B.** Ai fini di prestazioni ottimali, non bollire le provette più di una volta.

Inoculare il campione nel terreno scelto non appena perviene in laboratorio. In caso di campioni liquidi, inoculare i terreni in provetta con una o due gocce del campione. Triturare i campioni di tessuto destinati alla coltura di organismi, poi omogeneizzarli in brodo sterile ridotto, come Enriched Thioglycollate Medium. Eseguire quindi l'inoculo come per i campioni liquidi. I campioni su tampone possono essere inseriti nel brodo dopo l'inoculo del terreno in piastra. In alternativa, è possibile "strofinare" il campione in una piccola quantità di brodo ridotto sterile come Enriched Thioglycollate Medium e il brodo utilizzato per l'inoculazione dei supporti come per i campioni liquidi.

I campioni di cui si è certi o che si sospetta che contengano anaerobi obbligati devono essere inoculati in prossimità del fondo della provetta. Incubare a  $35 \pm 2$  °C o a un'altra temperatura appropriata, preferibilmente in anaerobiosi.

Conservare i brodi di coltura per almeno 1 settimana prima di classificarli come negativi e gettarli.

#### Controllo di qualità a cura dell'utente

1. Verificare che le provette non presentino segni di deterioramento come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Controllare le prestazioni inoculando un campione rappresentativo di provette con colture pure di microrganismi di controllo stabile che producono reazioni note e attese. Si raccomandano le seguenti colture:

Terreno	Ceppo	Risultati attesi
Tutti i terreni	<i>Bacteroides vulgatus</i>	Crescita
	ATCC 8482	
	<i>Clostridium perfringens</i>	Crescita
	ATCC 13124	

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere eseguite in conformità alle norme vigenti locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Fare riferimento alle linee guida CLSI e alle norme CLIA in materia per una corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità.

#### RISULTATI

La crescita è indicata dalla presenza di torbidità rispetto al controllo non inoculato.

Esaminare la crescita mediante colorazione di Gram. Eseguire una subcoltura su terreni in piastra selettivi e non selettivi appropriati.

#### LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

I brodi di arricchimento non devono essere usati come unico terreno di isolamento, in quanto sono destinati all'utilizzo in combinazione con terreni su piastra selettivi e non selettivi al fine di aumentare la probabilità di isolare i patogeni, specialmente quando potrebbero essere presenti in piccolo numero.

Ai fini dell'identificazione, i microrganismi devono essere in coltura pura. Per l'identificazione finale, è necessario eseguire test morfologici, biochimici e/o sierologici.<sup>4,11,13-16</sup>

#### CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Prima della spedizione, vengono testate le caratteristiche prestazionali di tutti i lotti di Fluid Thioglycollate Medium, Enriched. Prima dell'inoculo, campioni rappresentativi del lotto vengono ridotti mediante ebollizione a bagnomaria per almeno 10 min e raffreddati. Con l'ausilio di un'ansa calibrata da 0,01 mL, le provette vengono inoculate con colture corrette a uno standard di torbidità McFarland 0,5. Gli inoculi per *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) e *Peptostreptococcus anaerobius* (ATCC 27337) sono preparati da colture cresciute su piastre CDC agar sangue di montone al 5% per anaerobi e corrette alla concentrazione di inoculo appropriata in Thioglycollate Medium, Enriched pre-ridotto. L'inoculo per *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482) viene prelevato da Thioglycollate Medium, Enriched e l'inoculo per *C. novyi* (ATCC 7659) viene prelevato da Chopped Meat Glucose Broth, PR II. Le provette sono inoculate sotto la superficie dei brodi, il più profondamente possibile nel terreno. I tappi vengono serrati subito dopo l'inoculo e le provette vengono incubate in aerobiosi a  $35 \pm 2$  °C. Dopo 18 – 24 h e 42 – 48 h, le provette vengono esaminate per verificare l'entità della crescita. Tutti gli organismi mostrano una crescita da leggera a sostenuta dopo 48 h.

Prima della spedizione, vengono testate le caratteristiche prestazionali di tutti i lotti di Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate. Prima dell'inoculo, campioni rappresentativi del lotto vengono ridotti mediante ebollizione a bagnomaria per almeno 10 min e raffreddati. Con l'ausilio di un'ansa calibrata da 0,01 mL, le provette vengono inoculate con colture corrette a uno standard di torbidità McFarland 0,5. Gli inoculi per *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) sono preparati da colture cresciute su piastre CDC agar sangue di montone al 5% per anaerobi e corrette alla concentrazione di inoculo appropriata in Thioglycollate Medium, Enriched pre-ridotto. L'inoculo per *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482) viene prelevato da Thioglycollate Medium, Enriched e l'inoculo per *C. novyi* (ATCC 7659) viene prelevato da Chopped Meat Glucose Broth, PR II. Le provette sono inoculate sotto la superficie dei brodi, il più profondamente possibile nel terreno. I tappi vengono serrati subito dopo l'inoculo e le provette vengono incubate in aerobiosi a  $35 \pm 2$  °C. Dopo 18 – 24 h e 42 – 48 h, le provette vengono esaminate per verificare l'entità della crescita. Tutti gli organismi mostrano una crescita da leggera a sostenuta dopo 48 h.

## DISPONIBILITÀ

### N. di cat. Descrizione

297642 BBL Fluid Thioglycollate Medium, Enriched, cartone da 100 provette di misura K. 

298518 BBL Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate, cartone da 100 provette di misura K. 

## BIBLIOGRAFIA

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. Sahn, 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 / Производители / Producător / Üretici / Proizvođač / Производител / Атқарушы
-  Use by / Spotřebuje 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 / Použite do / Usar antes de / Använd före / Исполняйте до / A se utiliza până la / Son kullanna tarihi / Upotrebiti do / Исползовать до / дейин пайдалануға / Uprzitijsbiti do / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-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) / ÁÁÁÁ-MM-GG / ÁÁÁÁ-MM (MM = fine mese) / MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mensesio pabaiga) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-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) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) / TTTT-MM-DD / TTTT-MM (MM = 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) / TTTT-MM-DD / TTTT-MM (MM = конец месяца) / ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы)
- REF** Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalognummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalogszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog numerasi / Kataloški broj / Номер по каталогу / Каталог номер
- EC/REP** Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret representant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud 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 / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Reprezentante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизирован представител 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 zařizení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniparatuur / Lääkinnäällinen 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 medisinsk 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 / Медицинский уред за диагностика in vitro / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostik Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Жасанды жагдайда журізіетін медициналық диагностика аспабы
-  Temperature limitation / Teplotni omezení / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hömersékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie 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 (serie) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Număr lot (Lotul) / Partii 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 utasítást / 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