



KVALITETSKONTROLPROCEDURER (Valgfrit)

I INDLEDNING

Fluid Thioglycollate Medium (Flydende thioglycollatmedium) er et universalmedium til dyrkning af anaerobere, mikroaerofiler og aerobere, der er anbefalet som ét af medierne til sterilitetstestning af biologiske prøver.

II FUNKTIONSTESTPROCEDURE

1. Inokulér repræsentative prøver med de dyrkninger, der er angivet nedenfor.
 - a. Løsn hættterne inden brug og placér glassene i kogende vand* i cirka 5 min, indtil mediet er reduceret (farveløst). Stram hættterne øjeblikkeligt efter fjernelse fra varme. Lad mediet afkøle til stuetemperatur.
***BEMÆRK:** Brug af mikrobølgeovn anbefales ikke.
 - b. Fra 24- til 48-h **Trypticase** sojabouillon dyrkninger eller berigede dyrkninger af thioglycollatmedium for *Bacteroides* og *Clostridium*-stammerne præparer en fortynding, der indeholder højst 100 CFU/mL.
 - c. Inokulér glas med 0,75 mL af fortyndingerne ved brug af sterile 1,0 mL pipetter.
 - d. Inkubér glas med løsnede hættter ved 30 til 35 °C i anaerobe omgivelser, med undtagelse af CLSI-stammer (*Bacteroides fragilis* ATCC 25285 og *Staphylococcus aureus* ATCC 25923), som bør inkuberes med tillukkede hættter.
2. Undersøg glas med CLSI-anbefalede kontrolstammer (tillukkede hættter) ved 18 til 24 og 48 h for vækst. Undersøg glas med de andre kontrolstammer (USP-anbefalede) i op til 3 dage for vækst.
3. Forventede resultater

CLSI-kontrolorganismer (ATCC-stammer)

**Bacteroides fragilis* Vækst
(25285)

**Staphylococcus aureus* Vækst
(25923)

Yderligere stammer, der blev anvendt
(USP-vækstfremmelsestest)

***Staphylococcus aureus* Vækst
ATCC 6538

***Pseudomonas aeruginosa* Vækst
ATCC 9027

***Clostridium sporogenes* Vækst
ATCC 11437

***Clostridium sporogenes* Vækst
ATCC 19404

***Bacillus subtilis* Vækst
ATCC 6633

***Kocuria rhizophila* Vækst
ATCC 9341

***Bacteroides vulgatus* Vækst
ATCC 8482

* Anbefalet organismestamme til bruger kvalitetskontrol.

** Til bekræftelse af vækstfremmelse til brug i USP-sterilitetstest.

III YDERLIGERE KVALITETSKONTROL

1. Undersøg glas som beskrevet under "Produktforringelse".
2. Undersøg visuelt repræsentative glas for at sikre, at eventuelle eksisterende fysiske defekter ikke vil påvirke anvendelsen.
3. Bestem pH med potentiometrisk ved stuetemperatur for overholdelse af specifikationen på $7,1 \pm 0,2$.
4. Inkubér uinokulerede repræsentative glas ved 20 til 25 °C og 30 til 35 °C og undersøg efter 7 dage for mikrobiel kontaminering.

PRODUKTINFORMATION

IV TILSIGTET BRUG

Fluid Thioglycollate Medium er i overensstemmelse med specifikationerne fra *The United States Pharmacopeia (USP)*.

Fluid Thioglycollate Medium (FTM) anvendes til sterilitetstestning af biologiske prøver og til dyrkning af anerober, aerobere og mikroaerofiler.

V RESUMÉ OG FORKLARING

Fluid Thioglycollate Medium blev udviklet af Brewer til hurtig dyrkning af anerober og aerobere.¹ Det blev først gjort disponibelt i dehydreret form af Baltimore Biological Laboratory (BBL) i 1940. Indarbejdning af kaseinpepton blev introduceret af Veri i 1944.²

Dette medium er i stand til at undersøgte god vækst af mange forskellige kræse organismer af både patogene og ikke-patogene arter. En karakteregenskab af natriumthioglycollat er udover at sænke potentialet for oxideringsreduktion dets evne til at neutralisere den antibakterielle aktivitet af kviksølvforbindelser. Disse karakteregenskaber gør FTM specielt nyttigt ved bestemmelse af tilstedeværelsen af kontaminering i biologiske og andre materialer. **BBL**-formlen opfylder kravene for *USP*-vækstfremmelsestesten.³

Fluid Thioglycollate Medium kan anvendes efter klargøring, indtil cirka 30 % af mediet er blevet oxideret, som angivet med pink resazurin ved overfladen. Hvis oxidering er fremskredet yderligere, kan bouillonnen genopvarmes en enkelt gang i damp eller kogende vand, nedkøles og anvendes.

VI PROCEDURENS PRINCIPPER

Dextrose, pepton, L-cystin og gærekstrakt giver de vækstfaktorer, der er nødvendige for bakteriel replikation. Natriumchlorid sørger for vigtige ioner. Natriumthioglycollat er et reduktionsmiddel, der forhindrer ophobningen af peroxider, som er dødbringende for visse mikroorganismer. L-cystinet er også et reduktionsmiddel, da det indeholder sulfhydryl-grupper, som kan inaktivere tunge metalforbindelser og opretholde et lavt redox-potentiale og derved understøtte anaerobiose. Resazurin er en oxidation-reduktions-indikator, som er pink, når oxideret, og farveløs, når reduceret. Den lille mængde agar hjælper til med at opretholde et lavt redox-potentiale ved at stabilisere mediet i forhold til konvektionsstrømninger, og derved opretholde anaerobiose i mediets lavere dybder.⁴ *USP* angiver 5,5 g/L dextrose i formuleringen for Fluid Thioglycollate Medium. **BBL**-formlen indeholder den vandfrie form af dextrose (5,0 g/L).

VII REAGENSER

Fluid Thioglycollate Medium

Omtrentlig formel* pr. liter rensat vand

Pankreatisk fordøjelse af kasein	15,0	g
L-cystin	0,5	g
Dextrose (vandfri)	5,0	g
Gærekstrakt	5,0	g
Natriumchlorid	2,5	g
Natriumthioglycollat	0,5	g
Resazurin	0,001	g
Agar	0,75	g

*Justeret og/eller suppleret som påkrævet for at opfylde funktionskriterier.

Advarsler og forholdsregler

Til *in vitro* diagnostik.

Der skal udvises forsigtighed ved rapportering af resultater af direkte gramfarvning og/eller direkte mikrobiologisk farvning for vævsprøver, som er behandlet med dette medium, på grund af den mulige tilstedeværelse af ikke-levedygtige organismer i dyrkningsmediet.

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

Patogene mikroorganismer, herunder hepatitisvira og humant immundefekt virus, kan forekomme i kliniske prøver. "Standardforholdsregler" 5-8 og institutionelle retningslinjer skal overholdes ved håndtering af alle emner, der er kontamineret med blod og andre legemsvæsker. Steriliser præparerede glas, prøvebeholdere og andre kontaminede materialer efter brug ved autoklavering, inden de bortskaffes.

Opbevaringsinstruktioner

Ved modtagelsen skal glas opbevares mørkt, som angivet på etiketten. Undgå frysning og overophedning. Må ikke åbnes inden brugstidspunktet. Begræns lyspåvirkning til det mindst mulige. Medier i glas, som 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.

Produktforringelse

Glassene må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring eller andre tegn på forringelse.

VIII PRÆPARATINDSAMLING OG -HÅNDTERING

Præparater, der er egnet til dyrkning, kan håndteres med forskellige teknikker. Læs relevante tekster for at få detaljerede oplysninger.^{9,10} Præparaterne skal indsamles, inden der indgives antimikrobielle stoffer. Sørg for prompt levering til laboratoriet.

IX PROCEDURE

Vedlagte materialer

Fluid Thioglycollate Medium

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpedyrkningsmedier, reagenser, kvalitetskontrolorganismer og laboratorieudstyr som påkrævet.

Testprocedure

Overhold aseptisk teknik.

Løsn hætteerne inden brug og placér glassene i kogende vand* i cirka 5 min, indtil mediet er reduceret (farveløst). Stram hætteerne øjeblikkeligt efter fjernelse fra varme. Lad mediet afkøle til stuetemperatur.

Inokulér præparaterne direkte i mediet og inkubér glas i op til 7 dage ved 35 ± 2 °C for almen brug.

Ved sterilitetstestning bør anbefalingerne fra *USP*³ og diverse kontrollerende agenturer følges.¹¹ Disse referencekilder angiver forholdet mellem medium og produkt, som bør anvendes til sterilitetstest, samt detaljer om prøvetagning og tolkning af testresultater. Med henblik på sterilitetstestningsformål er det vigtigt, at mediet i testkarrene er reduceret til en grad, der er tilstrækkelig til at sikre replikationen af obligate anaerobes og mikroaerofile organismer. Hvis testprøven gør mediet så uklart, at mikrobiel vækst er vanskelig at påvise, bør der foretages overførsler til frisk medium.

***BEMÆRK:** Brug af mikrobølgeovn anbefales ikke.

Bruger kvalitetskontrol

Se "Kvalitetskontrolprocedurer"

Hvert medieparti er blevet testet ved hjælp af passende kvalitetskontrolorganismer, og denne testning opfylder produktspecifikationerne og CLSI-standarderne, hvor det er relevant.

Kvalitetskontroltestning skal som altid udføres i overensstemmelse med gældende lokale eller nationale regulativer, akkrediteringskrav og/eller laboratoriets standardkvalitetskontrolprocedurer.

En enkelt elektrode, som er så lille, at den passer ned i glassene, skal anvendes til at bestemme pH potentiometrisk af medier i glas. Elektrodens spids skal anbringes under overfladen af bouillonmedier.

X RESULTATER

Efter inkubation bevidnes vækst med tilstedeværelsen af uklarhed ved sammenligning med en uinokuleret kontrol. Strengt aerobes har tendens til at vokse i et tyndt lag ved overfladen af bouillon. Obligate anaerobes vil kun vokse i den del af bouillon, der findes under det øvre oxiderede (pinke) lag. Ved forsigtigt at fjerne væske fra forskellige niveauer er det muligt, at fobedre evenen til at adskille forskellige arter i en blandet dyrkning.

XI PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Anaerobes kan overgros af fakultative organismer, som vokser hurtigere. Undersøg og Gram-farv bouillon, hvis plademediet viser tegn på manglende vækst. Undgå udelukkende at afhænge af bouillondyrkninger ved isolering af anaerobes. Visse anaerobes kan være hæmmet af metaboliske produkter eller syrer, som produceres af fakultative anaerobes, der vokser endnu hurtigere.¹²

Dyrkningsmedier indeholder nogle gange døde organismer, der stammer fra mediet, og disse organismer kan være synlige i udstrykninger af dyrkningsmedier. Andre kilder til døde organismer, som kan blive synlige ved gramfarvning, omfatter farvningsreagenser, immersionsolie, objektglas og de prøver, som anvendes til inokulation. Hvis der er tvivl om Gram-farvnings validitet, skal dyrkningen inkuberes igen i en time eller to, hvorefter testen gentages, inden der afgives rapport.

Organismer skal være i ren dyrkning, for at de kan identificeres. Der bør udføres morfologiske, biokemiske og/eller serologiske test for at få en endelig identifikation. Læs de relevante tekster for detaljerede oplysninger og anbefalede procedurer.^{9,10,13}

XII FUNKTIONSDATA

Inden frigivelse testes alle partier af Fluid Thioglycollate Medium for funktionsdata. Inden inokulation reduceres repræsentative prøver fra dette parti ved kogning i et vandbad i ca. 5 min. Efter afkøling inokuleres glassene med 0,75 mL dyrkninger af *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285), *B. vulgatus* (ATCC 8482), *Clostridium sporogenes* (ATCC 11437 og ATCC 19404), *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) og *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538 og ATCC 25923). Inokulaterne for *B. subtilis*, *B. fragilis*, *C. sporogenes*, *K. rhizophila*, *P. aeruginosa* og *S. aureus* fortyndes til at indeholde højst 100 kolonidannende enheder (CFU) pr. mL. Inokulatet for *B. vulgatus* fremstilles af kolonier dyrket på plader med CDC-anaerob agar med 5 % fåreblod og justeres i thioglycollatmediet uden dextrose og indikator til at indsamle 10 – 100 CFU/mL. Straks efter inokulering strammes hætteerne på glas, som indeholder *B. fragilis* og *S. aureus*. Hætteerne på resten af glassene løsnes. Glas inkuberes ved 35 ± 2 °C. Glas, som indeholder *B. fragilis* og *S. aureus* (ATCC 25923), viser spor til kraftig vækst inden for 48 h inkubation. De resterende organismer viser moderat til kraftig vækst inden for 3 dages inkubation.

XIII BESTILLING

Kat. nr.	Beskrivelse
221195	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium (flydende thioglycollatmedium), 8 mL, pakke med 10, størrelse K glas
221196	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium (flydende thioglycollatmedium), 8 mL, karton med 100, størrelse K glas
299802	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium (flydende thioglycollatmedium), 8 mL, karton med 100, størrelse K glas (ink-jet-etiket)
220888	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium (flydende thioglycollatmedium), 20 mL, pakke med 10, størrelse A glas
220889	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium (flydende thioglycollatmedium), 20 mL, karton med 100, størrelse A glas
299803	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium (flydende thioglycollatmedium), 20 mL, karton med 100, størrelse A glas (ink-jet-etiket)

XIV LITTERATUR

1. Brewer, J.H. 1940. Clear liquid medium for the "aerobic" cultivation of anaerobes. J. Am. Med. Assoc. 115:598-600.
2. Vera, H.D. 1944. A comparative study of materials suitable for the cultivation of clostridia. J. Bacteriol. 47:59-70.
3. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2009. The U.S. pharmacopeia 32/The national formulary 27. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
6. 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.

7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 12th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
11. Horwitz, W. (ed.). 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed, vol.1. AOAC International, Gaithersburg, Md.
12. Reischelderfer and Mangels. 1992. In Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. 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.

BD Diagnostics Teknisk service og support: skal De kontakte den lokale BD repræsentant eller besøge 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