

## ANAEROBE CDC – EGG YOLK NEOMYCIN – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE)

(ΚΩΔΙΚΟΣ: 030217)

### ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Τριχοτομημένο τρυβλίο ANAEROBE CDC – EGG YOLK NEOMYCIN – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR για την καλλιέργεια όλων των αναερόβιων βακτηρίων (CDC) – Για την εκλεκτική απομόνωση των κλωστρηιδίων (EGG YOLK) – και για την απομόνωση, ταυτοποίηση *B. Fragilis* (BBE).

### ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το ANAEROBE CDC Αναπτυγμένο από την Lab M, έχει αποδειχθεί ανώτερο από άλλες φόρμουλες, ως αρχικό μέσο απομόνωσης απαιτητικών αναερόβιων βακτηρίων. Οι πεπτόνες που έχουν επιλεγεί παρέχουν τα μέγιστα για την ανάπτυξη των αναερόβιων βακτηρίων.

Το άμυλο και το sodium bicarbonate απενεργοποιούν τις τοξίνες, ενώ η haemin εκτός από βασικό θρεπτικό συμπλήρωμα βοηθάει στην παραγωγή χρωστικών ουσιών του *Porphyromonas melaninogenicus*.

Η Cysteine προάγει την ανάπτυξη των *Fusobacterium necrophorum*, *Propionibacterium acne* and *Bacteriodes fragilis*, και η arginine είναι πηγή ενέργειας για το *Eubacterium* spp. Το soluble pyrophosphate για το *Porph. Gingivalis* και *Porph. Asaccharolyticus*. Το Pyruvate βοηθάει εξουδετερώνοντας το υπεροξειδίο του υδρογόνου και είναι χρήσιμο από τη *Veillonella* spp. Ως πηγή ενέργειας.

Η Vitamin K και το sodium succinate είναι βασική παράγοντες για την ανάπτυξη αρκετών αναερόβιων μικροβίων.

Η μικρή ποσότητα γλυκόζης 0,1% είναι πηγή ενέργειας η οποία κατά τη διάσπαση της δεν επηρεάζει πολύ το pH του υλικού (μικρή παραγωγή οξέος).

ΣΥΝΘΕΣΗ ANAEROBE CDC	g/litre
Peptone mix	23.0
Sodium chloride	5.0
Soluble starch	1.0
Sodium bicarbonate	0.4
Glucose	1.0
Sodium pyruvate	1.0
Cysteine HCl monohydrate	0.5
Haemin	0.01
Vitamin K	0.001
L-Arginine	1.0
Soluble pyrophosphate	0.25
Sodium succinate	0.5
Agar No. 2	12.0
Horse Blood	60ml

Εμφάνιση: Κόκκινο – βουσινή μη διαυγές, λόγω της προσθήκης του αίματος.

Τελικό pH 7.2 ± 0.2 στους 25 °C.

Στο EGG YOLK NEOMYCIN Οι πεπτόνες της καζείνης και της σόγιας παρέχουν αμινοξέα και άλλα νιτρογενή συμπλέγματα. Το εκχύλισμα ζύμης παρέχει τις βιταμίνες του συμπλέγματος B. Η αιμίνη και η βιταμίνη K1 ενισχύουν την

ανάπτυξη των αναερόβιων μικροοργανισμών. Η L-κυστίνη είναι ένας ανασταλτικός παράγοντας ανάπτυξης και απαραίτητο αμινοξύ. Η προσθήκη κρόκου αυγού στοχεύει στην ανίχνευση της παραγωγής λεκιθινάσης και λιπάσης καθώς και στην ανίχνευση πρωτεολυτικής δράσης. Η λεκιθινάση μειώνει την λεκιθίνη του κρόκου, παράγοντας ένα αδιάλυτο, αδιαφανές κατάλοιπο στο θρεπτικό μέσο και γύρω από κάθε αποικία. Η λιπάση καταβολίζει τα ελεύθερα λιπαρά στον κρόκο του αυγού, παράγοντας ένα ιριδίζον φιλμ στην επιφάνεια των αποικιών, όπως η εικόνα λαδιού πάνω σε νερό. Δεδομένου ότι η αντίδραση της λιπάσης μπορεί να καθυστερήσει, τα τρυβλία θα πρέπει να διατηρούνται μέχρι 7 ημέρες πριν χαρακτηριστούν ως αρνητικά για την παραγωγή λιπάσης. Η πρωτεόλυση υποδεικνύεται με την παρουσία διαυγών ζωνών στο θρεπτικό υλικό γύρω από τις αποικίες.

ΣΥΝΘΕΣΗ EGG YOLK NEOMYCIN	g/litre
Peptone mix	23.0
Sodium chloride	5.0
Soluble starch	1.0
Sodium bicarbonate	0.4
Glucose	1.0
Sodium pyruvate	1.0
Cysteine HCl monohydrate	0.5
Haemin	0.01
Vitamin K	0.001
L-Arginine	1.0
Soluble pyrophosphate	0.25
Sodium succinate	0.5
Agar No. 2	12.0
Egg yolk	100ml
Neomycin	10mg

Εμφάνιση: Άγαρ κρεμ – κίτρινο μη διαυγές.

Τελικό pH 7.2 ± 0.2 στους 25 °C.

Το BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR συνδυάζει τη ταυτόχρονη αναστολή της ανάπτυξης των δυνητικά αναερόβιων καθώς και των περισσοτέρων gram (-) αναερόβιων μικροοργανισμών. Η διάκριση αυτή επιτυγχάνεται χάρη στην παρουσία γενταμικίνης και χολής βοοειδούς που περιλαμβάνονται στα συστατικά του υλικού. Το *B. fragilis* υδρολύει την εσκουλίνη παράγοντας έτσι εσκουλετίνη και δεχτρόζη. Η εσκουλετίνη αντιδρά με τα άλατα σιδήρου που υπάρχουν στο μέσο παράγοντας ένα σκούρο καφέ ως μαύρο σύμπλοκο το οποίο περιβάλλει τις αποικίες του *B. fragilis* στο μέσο.

ΣΥΝΘΕΣΗ BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR	g/litre
Peptone	8.0
Bile salts	20.0
Ferric citrate	0.5
Aesculin	1.0
Agar	15.0
Sodium Chloride	5.0
Beef Extract	5.0
Bacteriological Peptone	7.0
Lysed Horse Blood	10ml
Vitamin K1	5mg
Hemin	50mg
Gentamicin	70mg

Εμφάνιση: Άγαρ καφεκόκκινο ανοιχτό διαυγές.

Τελικό pH 7.1 ± 0.2 στους 25°C.

## ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το ANAEROBE CDC – EGG YOLK NEOMYCIN – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου.

Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικούς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).

Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες.

Εάν το τρυβλίο είναι ραγισμένο ή το σακουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε.

Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης.

Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό χωρίς ρωγμές, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης.

Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση.

Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλένουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι.

Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

## ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους 6 – 12 °C μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους.

Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των 6 °C δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση.

Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για 5 – 7 μέρες αφού το σφραγίσετε με παραφίλη ή με σακουλάκι.

Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους 6 - 25 °C για 3 ημέρες ή στους 25 - 40 °C για 24 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

## ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Αποσφράγιση σε απόλυτα καθαρό χώρο (Laminar flow), με γάντια.

Τοποθετήστε τα τρυβλία στον επωαστικό κλίβανο (37 °C) για 30 – 45' για να μην έχει υγρασία στην επιφάνεια του υλικού. Εμβολιασμός του δείγματος το συντομότερο δυνατό μετά τη λήψη του, με διαδοχικές αραιώσεις για μεμονωμένες αποικίες.

Επίωση σε αναερόβιες συνθήκες, στους 35 – 37 °C για 24 ώρες έως πέντε μέρες. Οι αναερόβιες συνθήκες μπορούν να ελέγχονται με ειδικό δείκτη αναεροβίωσης όπως είναι ο Gas pak δείκτης αναερόβιων συνθηκών.

## ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

### ANAEROBE CDC:

Το *Bacteroides fragilis* αναπτύσσεται σχετικά εύκολα (24-48 ώρες) και σχηματίζει λευκές-γκρι, μερικές βλενώδεις, κυκλικές ομαλές αποικίες (1-3mm) χωρίς ζώνη αιμόλυσης.

Το *Clostridium perfringens* αναπτύσσεται εύκολα (24 ώρες) και σχηματίζει μεσαίου μεγέθους γκρι, βλενώδεις, αποικίες (2-5mm) με ζώνη β-αιμόλυσης.

### EGG YOLK NEOMYCIN:

Το *Clostridium perfringens* αναπτύσσεται εύκολα (24 ώρες) και σχηματίζει μεσαίου μεγέθους λευκές, αποικίες (3-5mm) με θετική (+) λεκιθινάση (λευκή, αδιαφανής ζώνη που εκτείνεται από την άκρη των αποικιών).

Το *Clostridium sporogenes* αναπτύσσεται εύκολα (24 ώρες) και σχηματίζει μεσαίου μεγέθους λευκές, ανώμαλες αποικίες (3-6mm) με θετική (+) λιπάση, (ιριδίζουσα γυαλάδα στην επιφάνεια του άγαρ όταν το τρυβλίο συγκρατείται υπό γωνία προς την πηγή φωτός).

### BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR:

Μετά από επώαση 48 ωρών τα περισσότερα αναερόβια, εκτός του *B. fragilis*, έχουν ανασταλεί.

Οι αποικίες του *B. fragilis* έχουν διάμετρο μεγαλύτερη από 1mm και να είναι γκριζες, κυκλικές και διογκωμένες με μαύρισμα του υλικού γύρω από τις αποικίες λόγω της υδρόλυσης της εσουλίνης.

## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η τελική ταυτοποίηση πρέπει να γίνεται με βιοχημικούς και ορολογικούς ελέγχους. (π.χ., δοκιμή συγκόλλησης Latex Test και μπορεί να εκτελούνται απευθείας από τις ύποπτες αποικίες.

Μια αρνητική δοκιμή λεκιθινάσης θα πρέπει να συγκριθεί με ένα μη εμβολιασμένο EGG YOLK NEOMYCIN, καθώς η λεκιθινάση μπορεί να διαχέεται σε ολόκληρη την επιφάνεια του άγαρ και να καθιστά δύσκολη την ερμηνεία.

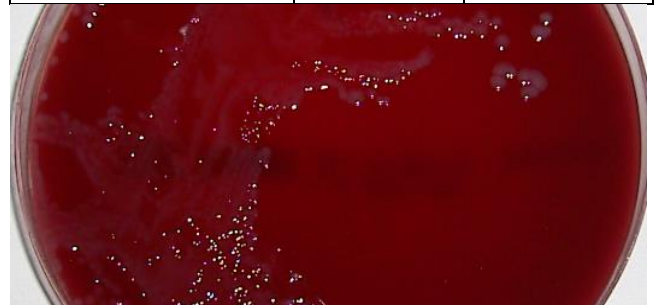
Ορισμένοι μικροοργανισμοί μπορεί να απαιτούν έως και μία εβδομάδα για να προκαλέσουν θετική αντίδραση λιπάσης.

Τα αναερόβια βακτήρια είναι πολύ ευαίσθητα στην επαφή τους με το οξυγόνο. Προσέχουμε να έχουμε πάντα δείκτη αναεροβίωσης για να είμαστε σίγουροι για τις αναερόβιες συνθήκες. Επίσης το δείγμα πρέπει να μπαίνει σε αναερόβιες συνθήκες σύντομα.

## ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

### ANAEROBE CDC

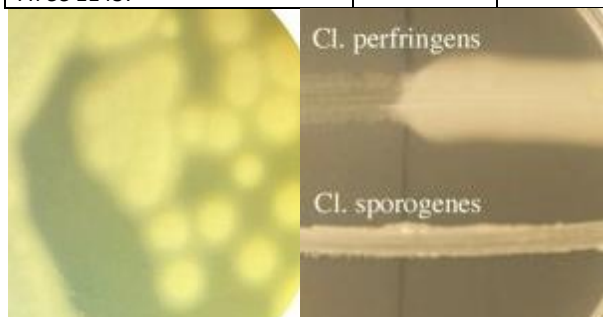
Μικρόβιο	Ανάπτυξη	Αποικίες
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Καλή	Χωρίς αιμόλυση
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Καλή	β αιμόλυση



*Bacteroides fragilis* ATCC 25285

#### EGG YOLK NEOMYCIN

Μικρόβιο	Λεκιθινάση	Λιπάση
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	+	-
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	-	+



*Clostridium perfringens*

#### BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη	Αποικίες
<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	Καλή	Μαύρο χρώμα στο υλικό.
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	Δεν αναπτύσσεται	
<i>Proteus mirabilis</i>	12453	Δεν αναπτύσσεται.	



*Bacteroides fragilis* ATCC 25285

#### ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα.

Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικά μολυσματικά απόβλητα.

Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

#### ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

ANAEROBE CDC – EGG YOLK NEOMYCIN – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) - **CE**

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο τριχοτομημένο 9cm	030217	10 τεμάχια	6 – 12 °C	2 μήνες

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepere σύμφωνα με τις απαιτήσεις της Ευρωπαϊκής οδηγίας 98/79/EK. Κωδικός κατά EDMA 14 01 04 90. Η εταιρεία Bioprepere έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα EN ISO 9001:2008 / ΔΥ86/1348/2004.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ANAEROBE CDC

Brazier, J.S. (1986). Yellow fluorescence of Fusobacteria Letters in Applied Microbiol. 2: 124-126.

Brazier, J.S. (1986). A note on ultra violet red fluorescence of anaerobic bacteria in vitro. J. Appl. Bact. 60: 121-126.

Eley, A., Clarry, T., Bennett, K.W. (1989). Selective and differential medium for isolation of Bacteriodes ureolyticus from clinical specimens. European Journal of Clinical Microbiology, Infectious Diseases. 8: 83-85.

Wade W. Griffiths, M. (1987). Comparison of Media for cultivation of subgingival bacteria. J. Dent. Res. 66: no. 4 abstract 334.

Heginbotham M., Fitzgerald T.C., and Wade W.G. (1990). Comparison of solid media for the culture of anaerobes. J. Clin. Path. 43: 253-256.

#### EGG YOLK NEOMYCIN

Atlas, R. M. 1993. Handbook of microbiological media p. 794-795, CRC Press, Boca Raton, FL.

Association of Official Analytical Chemists. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.

Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (ed.). 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of food, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

Marshall, R. T. (ed.). 1992. Standard methods for the microbiological examination of dairy products, 16th ed. American Public Health Association, Washinton, D.C.

#### BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE)

Anderson, N.L., et al. Cumitech 3B; Quality Systems in the Clinical Microbiology Laboratory, Coordinating ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Tille, P., et al. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, C.V. Mosby Company, St. Louis, MO.

Facklam, R.R. and M.D. Moody. 1970. Appl. Microbiol.; 20:245

Isenberg, H.D. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Vol. I & II.

American Society for Microbiology, Washington, D.C.

MacFaddin, J.F. 1985. Media for Isolation, Cultivation, Identification,

Maintenance of Bacteria, Vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

#### ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO

**Bioprepere**  
microbiology



#### Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: [bioprep1@otenet.gr](mailto:bioprep1@otenet.gr) [www.bioprepere.gr](http://www.bioprepere.gr)