ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

ΠΡΟΪΟΝ: **ANAEROBE CDC – ANAEROBE CNA – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE)**

ΚΩΔΙΚΟΣ: **030151**

IVD

Ημ. 1ης Έκδοσης: 7ος 2009
Ημ. 3ης Αναθεώρησης: 9ος 2023

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Τριχοτομημένο τρυβλίο ANAEROBE CDC – ANAEROBE CNA – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) για την καλλιέργεια *όλων των αναερόβιων βακτηρίων* (CDC) – Για την Απομόνωση, ταυτοποίηση αναερόβιων gram (+) κόκκων (C.N.A.) – και για την απομόνωση, ταυτοποίηση *B. Fragilis* (BBE).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το ANAEROBE CDC BLOOD AGAR (FASTIDIOUS) 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 υπεροξείδιο του υδρογόνου και είναι χρήσιμο από τη *Veillionella* 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 – βυσσινή μη διαυγές, λόγω της προσθήκης του αίματος.
Τελικό pH 7.2 ± 0.2 στους 25 °C.

Στο ANAEROBE CNA Ο συνδυασμός του μίγματος πεπτονών και το εκχύλισμα βοδινού προσφέρουν ένα ευρύ φάσμα απαραίτητων θρεπτικών ουσιών. Το άμυλο καλαμποκιού χρησιμεύει επίσης ως πηγή ενέργειας με βιταμίνες.

Το χλωριούχο νάτριο διατηρεί την ωσμωτική ισορροπία. Το αίμα αλόγου είναι σημαντικός παράγοντας ανάπτυξης καθώς επίσης για τον έλεγχος των αιμολυτικών ιδιοτήτων των βακτηρίων. Η αιμίνη και η βιταμίνη k1 παρέχουν επίσης παράγοντες ανάπτυξης αλλά είναι και τα απαραίτητα συστατικά για τα αναερόβια βακτήρια. Η L-κυστεΐνη και η διθειοθρεϊτόλη είναι αναγωγικοί παράγοντες.

Η προσθήκη Colistin και Nalidixic Acid διευκολύνει την απομόνωση των Gram (+) θετικών αναερόβιων κόκκων από δείγματα που περιέχουν μεικτή χλωρίδα.

Συγκεκριμένα αναστέλλουν την ανάπτυξη των Gram (-) αρνητικών αναερόβιων βακτηρίων.

ΣΥΝΘΕΣΗ ANAEROBE CNA	**g/litre**
Peptone Mixture	20.00
Sodium Chloride	5.00
Beef Extract	3.00
Corn Starch	1.00
Nalidixic Acid	0.015
Colistin Sulfate	0.01
D-dithiothreitol	0,1
L-Cystein HCL	0,5
Vitamin K1	0.01
Hemin	0.01
Bacteriological Agar	15.0
Horse Blood Defibrinated	50ml

Εμφάνιση: Κόκκινο – βυσσινή μη διαυγές, λόγω της προσθήκης του αίματος.
Τελικό pH 7.3 ± 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 γενταμυκίνης 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 – ANAEROBE CNA – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) 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 δυνητικώς 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 2 – 8 °C μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους.
Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των 2 °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 παραφίλμ η 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.
Επώαση 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 βλεννώδεις, κυκλικές ομαλές αποικίες (1-3mm) Χωρίς ζώνη αιμολύσεως.

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

ANAEROBE CNA:

Ο *Peptostreptococcus anaerobius* αναπτύσσεται σε 24 - 48 ώρες και σχηματίζει μικρές λευκές-γκρι, αποικίες (1-2mm) με ζώνη β-αιμολύσεως.

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 γκρίζες, κυκλικές και διογκωμένες με μαύρισμα του υλικού γύρω από τις αποικίες λόγο της υδρόλυσης της εσκουλίνης.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

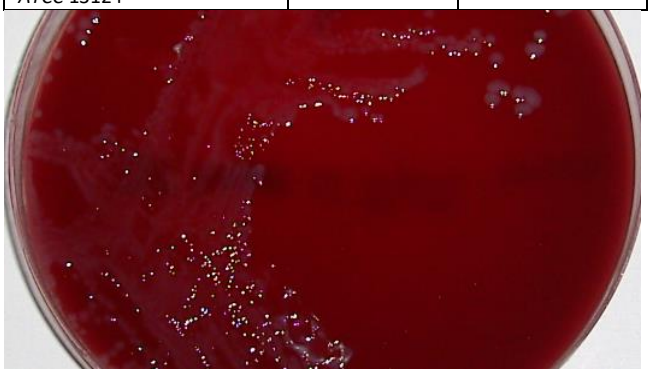
Η τελική ταυτοποίηση πρέπει να γίνεται με βιοχημικούς και ορολογικούς ελέγχους (π.χ., δοκιμή συγκόλλησης Latex Test και μπορεί να εκτελούνται απευθείας από τις ύποπτες αποικίες.

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

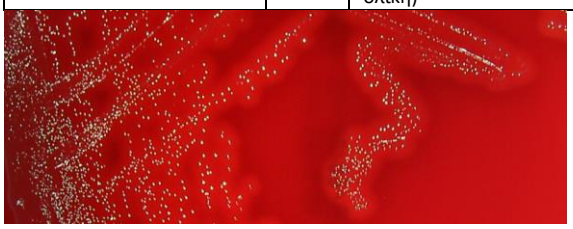
Μικρόβιο	Ανάπτυξη	Αποικίες
Bacteroides fragilis ATCC 25285	Καλή	Χωρίς αιμόλυση
Clostridium perfringens ATCC 13124	Καλή	β αιμόλυση



Bacteroides fragilis ATCC 25285

ANAEROBE CNA

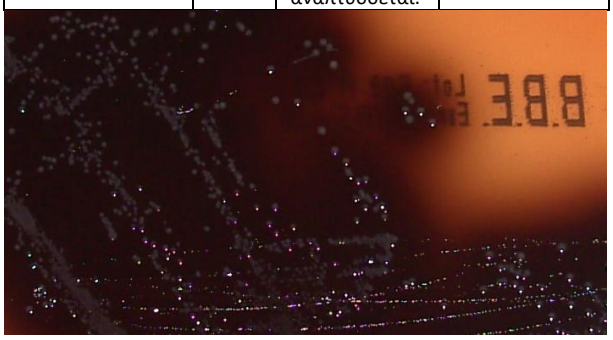
Μικρόβιο	ATCC	Αποικίες
Peptostreptococcus anaerobius	27337	β-αιμόλυση
Escherichia coli	25922	Αναστολή (μερική ή ολική)



Peptostreptococcus anaerobius ATCC 27337

BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη	Αποικίες
Bacteroides fragilis	25285	Καλή	Μαύρο χρώμα στο υλικό.
Clostridium perfringens	13124	Δεν αναπτύσσεται	
Proteus mirabilis	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 δυνητικός 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 – ANAEROBE CNA – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) - CE

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο τριχοτομημένο 9cm	030151	10 τεμάχια	2 – 8 °C	2 μήνες

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepare σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.
ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714010490X8. EDMA: (14 01 04 90) Other Prepared Media in Plates.
Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ8δ/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.

ANAEROBE CNA
Ellner, Stoessel, Drakeford and Vasi, 1966, Am. J. Clin. Pathol., 40. 502
Ellner, Granato and May, 1973, Appl.Microbiol. 26:904
Esteve Z. 1984, Lab Med., 15:258

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

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 www.bioprepare.gr