

**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ**

Διχοτομημένο τρυβλίο ANAEROBE CDC – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) για την καλλιέργεια όλων των αναερόβιων βακτηρίων (CDC) – 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 *Porphyrromonas 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).

<b>ΣΥΝΘΕΣΗ ANAEROBE CDC</b>	<b>g/litre</b>
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.

Το BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR συνδυάζει τη ταυτόχρονη αναστολή της ανάπτυξης των δυνητικά αναερόβιων καθώς και των περισσότερων 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 δεχτροζη. 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.

<b>ΣΥΝΘΕΣΗ BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR</b>	<b>g/litre</b>
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 – 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 εγγυούνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συιστάται 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 αιμόλυσης.

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

#### 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 εσκουλίνης.

### ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

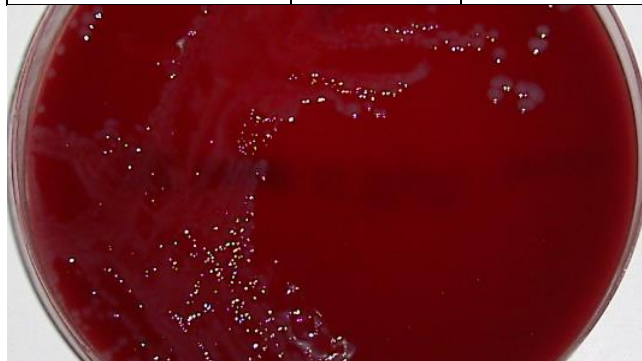
Η τελική ταυτοποίηση πρέπει να γίνεται με βιοχημικούς και ορολογικούς ελέγχους. (π.χ., δοκιμή συγκόλλησης Latex Test και μπορεί να εκτελούνται απευθείας από τις ύποπτες αποικίες.

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



*Bacteroides fragilis* ATCC 25285

## 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 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 – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) - 

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο διχοτομημένο 9cm	020134	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.

### 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

**Bioprepare**  
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.bioprepare.gr](http://www.bioprepare.gr)