

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**

ΠΡΟΪΟΝ: **ANAEROBE C.N.A. – BACTEROIDES
BILE ESCULINE AGAR (BBE)**

ΚΩΔΙΚΟΣ: **020224**



Ημ. 1^{ης} Έκδοσης:

7ος 2009

Ημ. 3^{ης} Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Διχοτομημένο τρυβλίο ANAEROBE C.N.A. – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) Για Απομόνωση & ταυτοποίηση αναερόβιων gram(+) κόκκων (C.N.A.) Απομόνωση, ταυτοποίηση *B. Fragilis* (BBE).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Στο ANAEROBE C.N.A. 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 έλεγχο των αιμολυτικών ιδιοτήτων των βακτηρίων. Η αμίνη 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	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 B.B.E. 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 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	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 C.N.A. – 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 σκαουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε. Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάσουν 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 πλύνουμε 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 – 12 °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. Όταν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία σε περίπτωση που σας περισσέψουν κάποια τρυβλία τα αποθηκεύετε στο σακουλάκι μέχρι την ημερομηνία λήξεως. Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους **6 - 25 °C** για **4 ημέρες** ή στους **25 - 40 °C** για **48 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 αναερόβιωσης όπως είναι ο Gas pak δείκτης αναερόβιων συνθηκών.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

ANAEROBE CNA:

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

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.

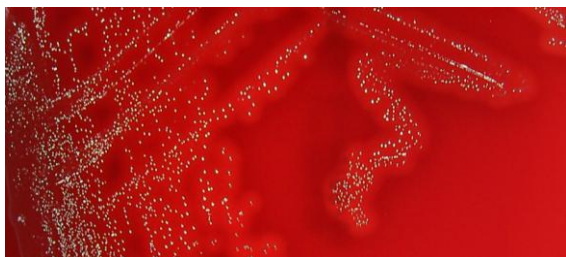
ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

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 αναερόβιωσης για να είμαστε σίγουροι για τις αναερόβιες συνθήκες. Επίσης το δείγμα πρέπει να μπαίνει σε αναερόβιες συνθήκες σύντομα.

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

ANAEROBE C.N.A.

Μικρόβιο	ATCC	Αποικίες
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	27337	Β αιμόλυση
<i>Escherichia coli</i>	25922	Αναστολή (μερική ή ολική)



Peptostreptococcus anaerobius

BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE)

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 δυνητικούς 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 C.N.A. – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) - **CE**

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο διχοτομημένο 9cm	020224	10 τεμάχια	2 – 12 °C	2 μήνες

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepere σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714010490X8. EDMA: (14 01 04 90) Other Prepared Media in Plates.

Η εταιρεία Bioprepere έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ86/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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.bioprepere.gr



TECHNICAL DATA SHEET

PRODUCT: **ANAEROBE C.N.A. –
BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE)**

REFERENCE: **020224**



Date 1st Edition:

7th 2009

Date 4th Revision:

6th 2024

DESCRIPTION

Divided Petri dish ANAEROBE C.N.A. – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) for the isolation and identification of anaerobic gram (+) cocci (C.N.A.) isolation and identification of *Bacteroides fragilis* (BBE).

PRINCIPLE OF THE METHOD

In ANAEROBE C.N.A., the combination of peptone mixes and beef extract provides a broad range of essential nutrients. Cornstarch also serves as an energy source enriched with vitamins. Sodium chloride maintains osmotic balance. Horse blood is an important growth factor and is used to assess the haemolytic properties of bacteria. Haemin and vitamin K1 supply additional growth factors and are essential components for anaerobic bacteria. L-cysteine and dithiothreitol act as reducing agents. The addition of colistin and nalidixic acid facilitates the isolation of gram-positive anaerobic cocci from samples containing mixed flora, specifically inhibiting the growth of gram-negative anaerobic bacteria.

FORMULA	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

Appearance: Red - crimson, not clear due to the addition of blood.

Final pH 7.3 ± 0.2 in 25 °C.

B.B.E. combines simultaneous inhibition of facultative anaerobes as well as most gram-negative anaerobic microorganisms. This differentiation is achieved due to the presence of gentamicin and bovine bile included in the medium's components. *Bacteroides fragilis* hydrolyzes esculin, producing esculetin and dextrose. Esculetin reacts with the iron salts present in the medium, forming a dark brown to black complex that surrounds the colonies of *B. fragilis* on the medium.

FORMULA	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

Appearance: Agar light brown, red clear.

Final pH 7.1 ± 0.2 in 25°C.

PRECAUTIONS

AEROMONAS BLOOD AGAR is an in-vitro laboratory diagnostic material and should only be handled by qualified people in the laboratory. This material contains peptones and extracts of animal origin. The certificates regarding the origin and health status of the animals do not fully guarantee the absence of transmissible pathogens. For this reason, it is recommended that these materials be treated as potentially infectious, with the usual safety precautions (avoiding ingestion or inhalation). Plates should always be handled with gloves and in Laminar flow Class II, to avoid contamination mainly by saprophytic fungi. If the plate is cracked or the bag has a hole, do not use it. Do not use petri dishes if there are signs of microbial contamination. The thickness of the agar must be 4 - 5 mm and the material without cracks, dryness or other signs of

deterioration. After the expiry date the material is unfit for use. In case of contact with the skin, wash immediately with plenty of water and soap. Positive samples must be destroyed according to the hygienic rules prescribed for the management of contaminated samples.

STORAGE CONDITIONS

Petri dishes should be stored at **2 – 12 °C** in their packaging until ready for use. Prolonged storage at temperatures below **2°C** can cause excessive moisture in the medium, increasing the risk of contamination. Freezing, even briefly, destroys the medium. Avoid excessive heating as well. Petri dishes can be used until the expiration date indicated on the label. When you open the airtight package, if you have any leftover plates, store them in the bag until the expiration date. For transport, our stability studies have shown that the dishes can remain at **6 – 25°C** for **4 days** or at **25 – 40°C** for **48 hours** without affecting the product's performance.

USAGE

Unsealing should be done in a clean environment (Laminar flow) while wearing gloves. Place the petri dishes in the incubator at 37°C for 30–45 minutes to ensure no moisture remains on the surface of the medium. Inoculate the sample as soon as possible after collection, using successive dilutions to isolate single colonies. Incubate under anaerobic conditions at 35–37°C for 24 hours to five days. Anaerobic conditions can be monitored using a specific anaerobiosis indicator, such as the GasPak anaerobic condition indicator.

INTERPRETATION OF RESULTS

ANAEROBE CNA:

Peptostreptococcus anaerobius grows within 24–48 hours, forming small white-gray colonies (1–2 mm) with a β-hemolysis zone.

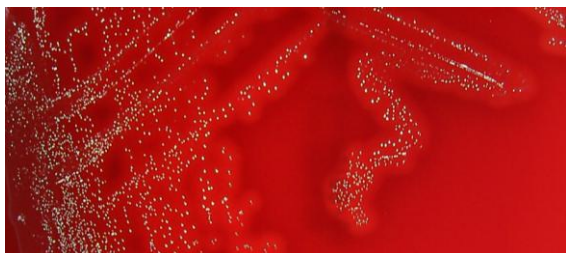
BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR:

After 48 hours of incubation, most anaerobes, except *Bacteroides fragilis*, are inhibited. Colonies of *B. fragilis* have a diameter greater than 1 mm, appear gray, circular, and raised, with blackening of the medium around the colonies due to esculin hydrolysis.

GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

ANAEROBE C.N.A.

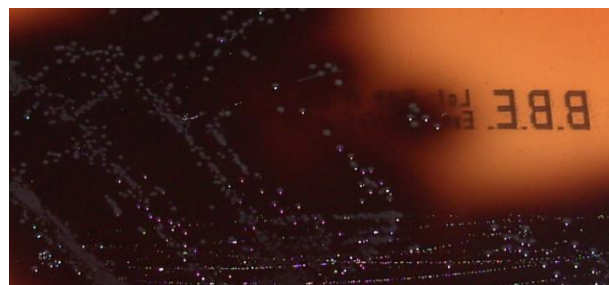
Germ	ATCC	Colonies
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	27337	B hemolysis
<i>Escherichia coli</i>	25922	Suspension (partial or total)



Peptostreptococcus anaerobius

BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE)

Germ	ATCC	Growth	Colonies
<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	Good	Black color on the material.
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	No growth	
<i>Proteus mirabilis</i>	12453	No growth	



Bacteroides fragilis ATCC 25285

WASTE DISPOSAL OF WASTE

Materials that show no growth can be considered as non-hazardous waste and disposed of accordingly. Materials that show colony growth must be disposed of according to the guidelines for infectious or potentially infectious waste. The laboratory is responsible for the proper management of infectious waste according to its nature and level of risk and must handle and dispose of it (or assign its management and disposal) in compliance with the applicable regulations.

SPECIFICATIONS

ANAEROBE C.N.A. – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) - 

ITEM	CODE	PACKAGE	STORAGE	SHELF LIFE
Petri dish halved 9cm	020224	10 items	2 – 12 °C	2 months

It is produced in Greece from the Bioprep company in accordance with the requirement of the European guidance 98/79/EK. Code by EDMA 14 01 04 90. The Bioprep company has been certified according to the standards EN ISO 9001:2008 / ΔY86/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ellener, P.C., C.J. Stoessel, E. Drakeford, and F. Vassi 1966. A new culture medium for medical bacteriology. Am J. Clin Pathol.

45:502-504. Ruoff, k., I. 1995 Streptococcus.

American Public Health Association (1950). Diagnostic Procedures and Reagents. 3rd edn. A.P.H.A., New York.

American Public Health Association (1946). Standard Methods for the examination of Water and Sewage. 9th edn. A.P.H.A., New York.

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.

IN VITRO MANUFACTURER'S DATA



G. PAPANIKOLAOU & CO

PRODUCTION LABORATORIES OF CULTURE MEDIA

Potamou 5, Industrial Area Keratea, Attica

P.O. Box: 4893, Postal Code: 9001 - Tel: +30 2299066113. Fax: +30 2299066112

E-mail: bioprep1@otenet.gr

www.bioprep.gr