

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**

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

ΚΩΔΙΚΟΣ: **020134**



Ημ. 1^η Έκδοσης:
7ος 2009
Ημ. 3^η Αναθεώρησης:
6ος 2024

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 *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 *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 – 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 δεχτρώζη. 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 – 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 – 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 **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 αναερόβιωσης 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 αιμόλυσεως.

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

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 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 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 CDC – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) - **CE**

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο διχοτομημένο 9cm	020134	10 τεμάχια	2 – 12 °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 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.

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.



TECHNICAL DATA SHEET

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

REFERENCE: **020134**



Date 1st Edition:
7th 2009
Date 4th Revision:
6th 2024

DESCRIPTION

The petri dish halved ANAEROBE CDC – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) is used for the cultivation of all *anaerobic bacteria* (CDC) and for the isolation and identification of the *B. Fragilis* (BBE).

PRINCIPLE OF THE METHOD

The ANAEROBE CDC Developed by Lab M has proven superior to other formulas, as the primary means of isolating demanding anaerobic bacteria. The peptones selected provide the maximum for the growth of anaerobic bacteria. Starch and sodium bicarbonate inactivate toxins, while haemin, in addition to a basic nutritional supplement, helps in the production of pigments of *Porphyromonas melaninogenicus*. Cysteine promotes the growth of *Fusobacterium necrophorum*, *Propionibacterium acne* and *Bacteriodes fragilis*, and the arginine is a source of energy for *Eubacterium* spp. The soluble pyrophosphate for the *Porph. Gingivalis* and *Porph. Asaccharolyticus*. The Pyruvate helps by neutralizing hydrogen peroxide and is suitable for *Veillonella* spp. as a source of energy. Vitamin K and sodium succinate are the main factors for the growth of many anaerobic microorganisms. The small amount of glucose 0,1% is a source of energy which does not significantly affect the pH of the material during its decomposition. (low acid production)

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

Appearance: Red – maroon, non-transparent, due to the addition of blood.

Final pH 7.2 ± 0.2 at 25°C.

The BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR combines the simultaneous inhibition of the growth of potentially anaerobic and most gram (-) anaerobis microorganisms. This distinction is achieved by the presence of gentamicin and bile beef contained in the material components. The *B. fragilis* hydrolyzes the esculin and produces esculetin and dextrose. Esculetin reacts with the salts of the iron and produce a dark brown and black complex that surrounds *B. fragilis*.

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

Appearance: Agar brown light red clear.

Final pH 7.1 ± 0.2 at 25°C.

PRECAUTIONS

The ANAEROBE CDC – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) is an in vitro laboratory diagnostic material that should be manipulated only by trained laboratory staff. The handling of contact plates should always be done by wearing gloves and under a Laminar flow Class II, to avoid infections mostly of saprophytic fungi. If the petri-dish is broken or the package is damaged, do not use it. If petri dishes show signs of bacterial contamination do not use them the thickness of the agar should be 4 - 5 mm and the material without cracks, dryness or other signs of spoilage. After expiring date, the material is unsuitable for use. In case of contact with the skin we must immediately wash our hands with water and soap. Positive samples must be destroyed according to the hygiene rules that are anticipated for the handling of infectious samples.

STORAGE CONDITIONS

Petri dishes must be stored in **2 – 12 °C** in their packaging until the time of their use. Prolonged storage at a temperature below **6 ° C** creates enough moisture in the material at risk of contamination. Freezing even instantly destroys the material. Avoid overheating also. Petri dishes must be used until the expiration date which is shown 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 showed that the plates may remain at **6 - 25 ° C** for 4 days or at **25 - 40 ° C** for **48 hours**, without affecting the attribution of the product.

USAGE

Laminar flow sealing with gloves. Drying the plate in the incubator (37 ° C) for 30 - 45 minutes. Vaccinate the sample as soon as possible after taking it, with successive dilutions for individual colonies. Incubation under anaerobic conditions at 35-37 ° C for 24 hours to five days. Anaerobic conditions can be controlled by a specific anaerobic index such as the Gas and anaerobic conditions indicator.

INTERPRETATION OF RESULTS

ANAEROBE CDC:

Bacteroides fragilis grows relatively easily (24-48 hours) and forms white-gray, some mucous, circular smooth colonies (1-3 nm) without hemolysis zone.

Clostridium perfringens grow easily (24 hours) and forms medium sized gray colonies (2-5 nm) with β -hemolysis zone.

BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR:

After 48 hours of incubation most anaerobes, except *B. fragilis*, have been suspended.

The colonies of *B. fragilis* have a diameter bigger than 1mm and are gray, circular and swollen. The material around the colonies is black due to the hydrolysis of esculin.

LIMITATIONS OF THE METHOD

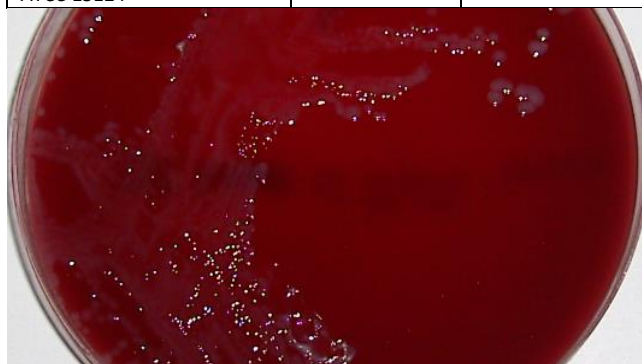
Final identification should happen by biochemical and serological tests. (Latex test welding) and can be performed directly by suspicious colonies.

Anaerobic bacteria are very sensitive to their contact with oxygen. We always have an anaerobic index to be sure about anaerobic conditions. Also, the item has to enter anaerobic conditions soon.

GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

ANAEROBE CDC

Microorganism	Growth	Colonies
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Good	No hemolysis
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Good	β hemolysis



Bacteroides fragilis ATCC 25285

BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR

Microorganisms	ATCC	Growth	Colonies
<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	Good	Black color on the material
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	Doesn't grow	
<i>Proteus mirabilis</i>	12453	Doesn't grow	



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 CDC – BACTEROIDES BILE ESCULINE AGAR (BBE) - 

ITEM	CODE	PACKAGE	KEEPING	LIFE SPAN
Petri dish halved 9cm	020134	10 pieces	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 / ΔY85/1348/2004.

BIBLIOGRAPHY

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.

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