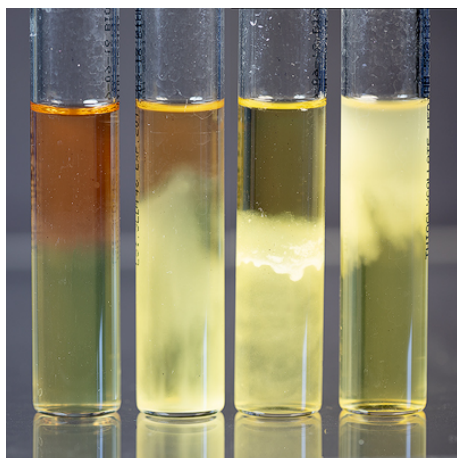




ANVÄNDNINGSPROCEDUR

THIOGLYCOLLATE MEDIUM

Dehydrerat odlingsmedium



facultativ anaerob (*S.aureus*), anaerob (*B.fragilis*), strikt anaerob (*P.aeruginosa*)

1 – AVSEDD ANVÄNDNING

In vitro-diagnostik. Allmänt flytande medium för odling av aeroba, anaeroba och mikroaerofila bakterier från kliniska prover och andra material. Låmpligt för bakteriell sterilitetstest enligt harmoniserad metod EP, USP, JP.

2 – TYPISK SAMMANSÄTTNING**(EFTER REKONSTITUERING MED 1 LITER VATTEN) ***

Trypton	15,000 g
Glukos	5,500 g
Jästextrakt	5,000 g
Natriumklorid	2,500 g
L-cystin	0,500 g
Natriumtioglykolat	0,500 g
Agar	0,750 g
Resazurin	0,001 g

*Formeln kan justeras och/eller kompletteras för att uppfylla de erforderliga prestandakriterierna.

3 – METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Thioglycollate Medium, även känt som flytande tioglykolatmedium, är ett flytande medium som formulerades av Brewer 1940¹, efter tidigare studier av Quastel och Stephenson 1926² och av Falk, Bucca och Simmons³ 1939, med fokus på formuleringar som möjliggjorde mikrobiell tillväxt från låga inokulum och tillväxt av anaeroba bakterier i flytande medier innehållande en låg koncentration av agar och reducerande föreningar.

Thioglycollate Medium framställs enligt den formel som anges i EP, USP, JP harmoniserad metod⁴ för sterilitetstest av farmaceutiska produkter.

Cystin och natriumtioglykolat, i en koncentration med låg toxicitet för mikroorganismer, fungerar som reducerande ämnen genom att reagera med och avlägsna molekylärt syre från mediet och förhindra ackumulering av peroxider, som kan vara dödliga för vissa aeroba och anaeroba mikroorganismer.⁵ Sulfhydrylgrupper (SH) i de två föreningarna inaktiverar arsenik, kvicksilver och andra tungmetallföreningar, vilket bibehåller en låg redoxpotential och säkerställer anaeroba förhållanden.⁵

Agar, som ingår i en koncentration på 0,75 %, underlättar initieringen av anaerobers tillväxt och möjliggör deras tillväxt från låga inokulum. Det fördröjer också spridningen av CO₂, diffusionen av syre och reducerande ämnen; en låg koncentration minskar konvektionsströmmarna i mediet för att förbättra förhållandena i den nedre delen av det rörformade mediet.⁵ Resazurin är en oxidations-reduktionsindikator som är rosa när den oxideras och färglös när den reduceras, och ersätter metylenblått som finns i Brewers ursprungliga formel. Kaseinpepton och jästextrakt är källor till kväve, kol, vitaminer och mineraler för mikrobiell tillväxt, glukos är en källa till kol och energi, natriumklorid upprätthåller osmotisk jämvikt. Tioglykolatmedium kan berikas med olika föreningar, inklusive vitamin K för att stimulera tillväxten av vissa stammar av *Bacteroides* och *Prevotella* och hemin, som en källa till faktor X, för att öka mikrobiell tillväxt.

4 – ANVISNINGAR FÖR BEREDNING AV MEDIUM

Lös upp 30 g i 1 000 ml kallt renat vatten, värn till kokpunkt under frekvent omrörning, fördela och sterilisera genom autoklavering vid 121 °C i 15 minuter. Kyl snabbt och förvara i mörker vid rumstemperatur. Värn vid behov i vattenbad före användning.

5 – FYSISKA EGENSKAPER

Utseende på dehydratiserat medium
Utseende på lösning och beredda rör

beige, fint, homogent, fritt flytande pulver
blekgult, klart när det är varmt, något grumligt vid rumstemperatur, med en rosa ring
som indikerar medium oxidation på toppen
7,1 ± 0,2

Slutligt pH vid 20–25 °C

6 – MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Thioglycollate Medium	Dehydrerat medium	4021372	500 g (16,7 L)
		4021374	5 kg (167 L)

7 – MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLS

Autoklav, vattenbad, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, sterila öglor och svabbprover, rör, kolvar, Erlenmeyerkolvar, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av bakterierna.

8 – PROVER

Thioglycollate Medium kan användas för bakteriologisk bearbetning av kliniska prover såsom vävnader, purulenta exsudat, sår och abscesser.^{5,6} Samla in kliniska prover före antimikrobiell behandling om möjligt. God laboratoriepraxis för insamling, transport och förvaring av kliniska prover bör tillämpas. För provtagning och hantering av prover avsedda för sterilitetstest, se lämplig referens.⁴

9 – TESTFÖRFARANDE

Låt rören nå rumstemperatur.

Om rören eller flaskorna före användning har en rosa färg (vilket indikerar aeroba förhållanden) eller om lösningen innehåller aggregat på grund av agar, måste locken skruvas av delvis och rören eller flaskorna placeras i kokande vatten i cirka 5 minuter tills mediet har reducerats (färglöst) och aggregaten har lösts upp.





Kyl snabbt och skruva åt locken ordentligt för att undvika att icke-steril luft kommer in.

För allmänt bruk, inokulera prover direkt i mediet och inkubera rören i upp till 7 dagar vid $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

För specifika tillämpningar, inkubera vid den temperatur och under den tid som anges i laboratorieprocedurerna och i enlighet med de odlade mikroorganismerna. För sterilitetstestning bör rekommendationerna i EP⁴ följas.

10 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubation indikeras förekomsten av bakterietillväxt av grumlighet jämfört med en icke-inokulerad kontroll.

Obligatoriska aerober tenderar att växa i den övre delen av buljongen i det oxiderade rosa skiktet, medan anaerober endast växer i den nedre, syrefattiga och rosa fria delen av buljongen i röret. Mikroaerobiska bakterier växer i den mellersta delen av buljongen.

11 – ANVÄNDARENS KVALITETSKONTROLL

Alla tillverkade partier av produkterna släpps för försäljning efter att kvalitetskontrollen har utförts för att kontrollera att specifikationerna uppfylls. Slut användaren kan dock utföra sin egen kvalitetskontroll i enlighet med lokala tillämpliga bestämmelser, i enlighet med ackrediteringskrav och laboratoriets erfarenhet. Här nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontrollen.

KONTROLLSTAMMAR			INKUBATIONSTEMPERATUR/T/ATM	FÖRVÄNTADE RESULTAT
<i>B.fragilis</i> **	ATCC	25285	35–37 °C / 48 timmar - A	god tillväxt
<i>S.aureus</i> **	ATCC	25293	35–37 °C / 48 timmar - A	god tillväxt
<i>C.sporogenes</i> *	ATCC	19404	35–37 °C / 72 timmar - A	god tillväxt
<i>P.aeruginosa</i> *	ATCC	9027	35–37 °C / 72 timmar - A	god tillväxt
<i>S.aureus</i> *	ATCC	6538	35–37 °C / 72 timmar - A	god tillväxt
<i>B.subtilis</i> *	ATCC	6633	35–37 °C / 72 timmar - A	god tillväxt
<i>C.perfringens</i> ***	ATCC	13124	35–37 °C / 18–24 timmar - A	god tillväxt

A: aerob inkubation; ATCC är ett varumärke som står för American Type Culture Collection

*: EP⁴; **: CLSI²; ***: ISO 11133:2014/Amd 1:2018³

12 – PRESTANDAEGENSKAPER

Produktiviteten testas med utspädningsmetoden genom att inokulera 1 ml av lämpliga decimala utspädningar av organismer i provrör och inkubera vid 35–37 °C i 18–72 timmar och registrera den högsta utspädningen som visar tillväxt i referensbatchen (G_{RB}) och i testbatchen (G_{TB}). Produktiviteten testas med följande målstammar: *C.sporogenes* ATCC 19404, *P.aeruginosa* ATCC 9027, *S.aureus* ATCC 6538, *S.aureus* ATCC 25293, *B.subtilis* ATCC 6633, *C.albicans* ATCC 10231, *S.pyogenes* ATCC 12384, *C.perfringens* ATCC 13124, *B.fragilis* ATCC 25285. Produktivetsindexet $G_{RB}-G_{TB}$ för varje teststam ska vara ≤ 1 .

13 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Snabbväxande fakultativa anaeroba bakterier kan växa i överflöd och dölja tillväxten av strikta anaerober.
- Vissa anaerober kan hämmas av de metaboliska produkter eller syror som bildas under tillväxten av snabbväxande fakultativa anaerober.
- Snabb död av bakterier kan inträffa i tioglykolatmedium, särskilt med gramnegativa kocker, *S.pneumoniae*, *C.perfringens* och andra syrakänsliga organismer. Om subkulturen från rör till plattmedier inte visar någon mikrobiell tillväxt, utför en Gramfärgning från buljongkulturen.
- Om rören med tioglykolatmedium används för konservering av bakterier, tillsätt cirka 0,1 g kalciumkarbonat till varje rör, vilket neutraliserar de syror som bildas under mikrobiell tillväxt, främjar bakteriell vitalitet och sporbildning och därmed förbättrar hållbarheten för syrakänsliga bakterier.
- Det rekommenderas att biokemiska, immunologiska, molekylära eller masspektrometriska tester utförs på isolat från ren odling för fullständig identifiering. Om det är relevant, utför test av antimikrobiell känslighet.
- Detta odlingsmedium är avsett som ett hjälpmedel vid diagnos av infektionssjukdomar. Tolkningen av resultaten måste göras med hänsyn till patientens kliniska historia, provets ursprung och resultaten från andra diagnostiska tester.

14 – FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

- Det här är en produkt för kvalitativ *in vitro*-diagnostik, endast avsedd för professionellt bruk. Den ska användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal som iakttar godkända försiktighetsåtgärder mot biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Uttorkade medier måste hanteras med lämpligt skydd. Konsultera säkerhetsdatabladet före användning.
- Detta odlingsmedium innehåller råmaterial av animaliskt ursprung. Kontroller av djuren före och efter slakt samt under produktions- och distributionscykeln för råvarorna kan inte helt garantera att denna produkt inte innehåller några överförbara patogener. Det rekommenderas därför att kulturmediet behandlas som potentiellt smittsamt och hanteras med iakttagande av de vanliga särskilda försiktighetsåtgärderna: förtär inte, andas inte in och undvik kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Ladda ner TSE Statement från webbplatsen www.biolifeitaliana.it, som beskriver de åtgärder som Biolife Italiana har vidtagit för att minska riskerna i samband med smittsamma djursjukdomar.
- Tillämpa god tillverkningssed i produktionsprocessen för beredda medier.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar som odlingsmedium eller mikrobiella agens.
- Sterilisera allt biologiskt riskavfall innan det kasseras. Kassera oanvänt medium och steriliserade rör som inokulerats med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Använd inte odlingsmediet som aktiv ingrediens i farmaceutiska preparat eller som produktionsmaterial avsett för konsumtion av människor och djur.
- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet för produkten finns tillgängliga på webbplatsen www.biolifeitaliana.it.
- Meddela Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) och berörda myndigheter om allvarliga incidenter som inträffar i samband med användningen av *in vitro*-diagnostiken.
- Informationen i detta dokument har definierats efter bästa kunskap och förmåga och utgör en riktlinje för korrekt användning av produkten men utan förpliktelse eller ansvar. I alla fall måste gällande lokala lagar, förordningar och standardförfaranden följas vid undersökning av prover som tagits från mänskliga och djuriska organ, miljöprover och produkter avsedda för konsumtion av människor eller djur. Vår information befriar inte våra kunder från deras ansvar att kontrollera att våra produkter är lämpliga för det avsedda ändamålet.



**15 – FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET**

Förvaras vid +10 °C /+30 °C på en torr plats, skyddad från direkt ljus. Vid korrekt förvaring kan produkten användas fram till utgångsdatum. Använd inte produkten efter detta datum. Undvik att öppna flaskan på fuktiga platser. Efter användning måste behållaren stängas ordentligt. Kassera produkten om behållaren och/eller locket är skadade, eller om behållaren inte är väl tillsluten, eller vid uppenbar försämring av pulvret (färgförändringar, hårdning, stora klumpar).

Användaren ansvarar för tillverknings- och kvalitetskontrollprocesserna för beredda medier och för valideringen av hållbarhetstiden för de färdiga produkterna, beroende på typ (rör/flaskor) och förvaringsmetod (temperatur och förpackning).

16 – REFERENSER

1. Brewer JH. Clear liquid medium for the "aerobe" cultivation of anaerobes. J Am Med Assoc 1940; 115:598-600
2. Falk Bucca and Simmons. J Bacteriol 1939; 37:121
3. Quastel and Stephenson. J Biochem 1926; 20:1125
4. European Pharmacopoeia, current edition.
5. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
6. Baron EJ, Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015.
7. Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, Rohner P, Piot P, Heuck CC. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. 2nd ed. 2003; Geneva: World Health Organization
8. CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004.
9. ISO 11133:2014/Amd.1:2018 Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media. Amendment 1

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

REF Katalognummer	eller REF	LOT Batch-kod	IVD Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	Tillverkare	Använd senast
Temperaturlägränsning		Innehållet räcker till <n> tester	Se bruksanvisningen	Förvara skyddat från direkt ljus	Förvaras torrt

REVIDERINGSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringarna	Datum
Revidering 2	Uppdaterad layout och innehåll	2020/07
Revidering 3	Uppdatering av "försiktighetsåtgärder och varningar" och "förvaringsförhållanden och hållbarhet"	2022/03
Revidering 4	Borttagning av föråldrad klassificering	2023/04
Revidering 5	Uppdatering av analysförfarande och lagringstemperatur i enlighet med EP	2025/02

Anmärkning: mindre typografiska, grammatiska och formateringsändringar inkluderas inte i granskningshistoriken.

