

THIOL Broth - Product Package Leaflet and Use Instructions

INTENDED USE

THIOL broth is an enrichment medium which facilitates the growth of facultative and obligate aerobic and anaerobic microorganisms. COPAN Thiol Broth is used for the enrichment of anaerobic bacteria isolated from cultures of clinical samples. THIOL Broth can be used with automatic plate culture systems (Copan WASP™ or Copan WASPLab™).

SUMMARY

THIOL broth is an enrichment medium consisting of dextrose, peptone and L-cystine solution and yeast extract, which provide the essential growth factors for bacterial reproduction.

The essential ions are provided by sodium chloride. Sodium thioglycollate and L-cystine act as reducing agents, which contribute to maintaining a low redox potential, supporting anaerobiosis.

Thiol broth also contains growth supplements such as Hemin and Vitamin K1 which facilitate the reproduction of some particularly demanding anaerobic bacterial strains.

REAGENTS

Components of THIOL Broth:

Names of components
L-cystine
Sodium chloride
Glucose
Yeast extract
Pancreatic digest of casein
Sodium thioglycollate
Hemin
Vitamin K1
Distilled water

STORAGE

Thiol Broth is a ready-made product and no additional preparation operations are required. The batch packed in its original package can be kept at 5-25°C until it is used or until the expiry date indicated on the tube and on the box. Do not overheat. Do not incubate or freeze before use. Inappropriate storage may cause a loss of product effectiveness.

PRODUCT DETERIORATION

Do not use THIOL Broth if: (1) the product shows visible signs of damage or contamination; (2) there are indications of leakages from the tube; (3) it is past its expiry date; (4) there are other visible deterioration signs.

SUPPLIED MATERIALS

Code	Product Description	Package Dimensions	Suitable for automation
4U002N	12x80 mm PET test tubes with PE perforated screw cap. One test tube contains 4 ml of THIOL Broth.	50 units per internal package. 50x6 units per box.	YES

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

Appropriate materials for culture and isolation of bacteria; refer to laboratory reference manuals for the protocols recommended for the culture and identification techniques.

INSTRUCTIONS FOR USE

For specific guidelines on sampling procedures, consult the reference manuals published. The Copan eSwab system can be used as a system for sampling, transport and preservation of the clinical sample. Refer to Copan for information on the most appropriate code, and refer to the product package leaflet for use instructions.

USER INSTRUCTIONS

MANUAL OPERATIONS

1. Unscrew the THIOL broth tube cap.
2. Inoculate the sample into the open tube.
For liquid samples, use a 10 µl loop or micropipette to transfer the sample to the tube.
For samples in eSwab:
a. Homogenize the tube for 10 sec with vortex at 2000/2500 RPM, unscrew the eSwab tube cap, immerse the swab in the Thiol Broth medium and shake vigorously for 5/10 seconds to release the sample into the enrichment medium, dispose of the swab and re-close the Thiol Broth tube.
b. Using a micropipette, transfer 30 µl of liquid Amies medium directly into the THIOL Broth. Fit the caps on the eSwab and Thiol Broth tubes.
3. Homogenize for 5-10 seconds at 2000/2500 rpm by a vortex.
4. Incubate the inoculated THIOL Broth tubes at 35°C ± 2°C.

5. Examine the THIOL Broth tube after 24-48 hours. The tube must be checked daily. Absence of turbidity in the tube does not indicate absence of the microbe growth.
6. Proceed with surface culture on appropriate medium in a plate. Surface culture on plate can be performed through surface culture of a sample portion taken by a micropipette or a loop, followed by distribution on plate. The minimum recommended quantity for surface culture in a plate after incubation of the Thiol Broth tube is 1-10 µl. Incubate the plates for 24-96 hours at 35°C ± 2°C in appropriate anaerobiosis conditions, or according to standard laboratory procedure.
7. At the end of incubation, proceed with plate reading.
8. You are advised to plate the inoculated Thiol Broth sample daily.
9. You are advised to check growth in the plate daily.

OPERATIONS WITH AUTOMATIC SYSTEM (WASP™)

Thiol Broth can be used on automatic culture systems like COPAN WASP™. For correct use, see the WASP™/WASPLab™ instruction manual.

LIMITATIONS

1. Some difficult samples with specific requirements may not grow in this medium.
2. The conditions and the volume of the sample collected for culture are significant variables for obtaining reliable culture results.
3. An appropriate sample collection from patients is an extremely critical factor for isolation and identification of the bacterial strains of interest.
4. Absence of turbidity in the Thiol Broth tube is not indicative of a negative result.
5. Check the tube daily until the end of incubation.
6. You are advised to plate both after incubation of 24 hours and after incubation of 48 hours in an appropriate growth medium.
7. Maintain the Thiol Broth tube in incubation for a maximum of 96 hours at 35°C ± 2°C.

NOTICES

1. For diagnostic use in vitro.
2. ⚠ This product is designed for single use; reuse may lead to unreliable results.
3. Not appropriate for any application other than its intended use.
4. Follow the recommended guidelines for collection of the samples.
5. Work in a laminar flow cabinet after inoculation of the product, wear gloves and other protections in line with universally recognized precautions for handling of clinical samples.
6. The use of this product with any diagnostic test or with any diagnostic tool shall be assessed and if necessary validated by the user before use.
7. Do not use the product if it is visibly damaged.
8. Do not ingest.
9. Do not inhale.
10. Do not inject.
11. The manufacturer shall not be considered liable for any inappropriate or non-qualified use of the product.
12. All clinical samples are considered potentially infective and shall be handled with appropriate precautions.
13. The THIOL Broth shall only be used for in vitro diagnostics. Its use for therapeutic or prevention purposes is not allowed under any circumstances.
14. Take appropriate precautions against biological hazards and apply aseptic techniques. The product may only be used by properly trained and qualified operators.
15. The instructions must be read and observed carefully.
16. Do not keep the tube in anaerobiosis conditions during incubation.
17. Do not place in an autoclave.
18. Do not filter.

WASTE DISPOSAL

Unused reagents can be considered as non-hazardous waste and disposed of accordingly.

For disposal, refer to the product MSDS.

Used reagents and any other contaminated waste material shall be disposed of according to the procedures established for infected or potentially infected products. The laboratory shall be responsible for managing waste materials by treatment and disposal, as established in all applicable regulations.

QUALITY CONTROL PROCEDURE

PERFORMANCE TEST

- > From a fresh culture, prepare a 0.5 McFarland suspension in PBS of every ATCC organism.
- > Prepare a serial 10 -4 dilution of 0.5 McFarland suspension.
- > Inoculate with 400 µl of the dilution in PBS directly in THIOL broth.
- > Put the caps back on the tubes.
- > Homogenize for 10 seconds at 2000/2500 RPM with vortex.
- > For the control at zero time, seed 100 µl of the bacterial suspension on nutrient medium (e.g. blood agar plate) and incubate in appropriate growth conditions.
- > Incubate THIOL broth tube at 35°C ± 2°C for 24-48 hours.
- > After incubation, seed 100 µl THIOL broth on appropriate nutrient medium (e.g. blood agar plate).
- > Incubate the plates at 35°C ± 2°C for 24-48 hours in appropriate growth conditions.

LIMITS OF ACCEPTABILITY: Time zero: CFU counting 30-300 CFU/100 µl

Time 24-48 h: growth

RESULTS

STRAIN	ZERO DEAD TIME COUNTING: CFU/PLATE	CFU COUNTING AFTER 18-24 HOURS AT 35°C±2°C; CFU/PLATE
Peptostreptococcus anaerobius ATCC 27337*	216	GROWTH
Bacteroides Vulgatus ATCC 8482*	198	GROWTH
Clostridium Perfringens ATCC 13124*	134	GROWTH
Prevotella Melaninogenica ATCC 25845	121	GROWTH
Propionibacterium acnes ATCC 6919	166	GROWTH
Bacteroides fragilis ATCC 25285	200	GROWTH
Staphylococcus aureus ATCC 25923	210	GROWTH

The results obtained and presented are representative of the values obtained during general evaluation of the product.
The results obtained and presented are representative of tests performed at the COPAN laboratory with ATCC strains.
The results obtained and presented were NOT obtained using clinical samples.

* Bacterial performance tests conducted using strains established by the CLSI-M22-A3 reference standard, specific for quality control of enrichment mediums for the growth of anaerobic bacteria.

THIOL Broth - Notice du produit & guide d'utilisation

UTILISATION ENVISAGÉE

Le THIOL Broth est un milieu d'enrichissement qui favorise la croissance de microorganismes aérobies et anaérobies facultatifs et obligatoires.

Le COPAN THIOL Broth est utilisé pour l'enrichissement de bactéries anaérobies isolées de cultures d'échantillons cliniques.

Le THIOL Broth peut être utilisé avec les systèmes automatiques pour l'ensemencement sur plaque (Copan WASP™ ou Copan WASPLab™).

SOMMAIRE

Le THIOL Broth est un milieu d'enrichissement composé par du dextrose, peptone et L-cystine et extrait de levain qui fournissent les facteurs de croissance essentiels pour la reproduction bactérienne.

Les ions essentiels sont fournis par le chlorure de sodium. Le thioglycolate de sodium et L-cystine agissent comme des agents réducteurs qui contribuent à maintenir un potentiel redox bas en supportant l'anaérobiose.

Le THIOL Broth est additionné de suppléments de croissance comme Hémine et Vitamine K1 qui favorisent la reproduction de certaines souches bactériennes anaérobies particulièrement exigeantes.

RÉACTIFS

Composants du bouillon THIOL Broth:

Nom des composants
L-cystine
Chlorure de sodium
Glucose
Extrait de levain
Peptone pancréatique de caséine
Thioglycolate de sodium
Hémine
Vitamine K1
Eau distillée

STOCKAGE

Le Thiol Broth est un produit prêt à l'emploi et ne requiert pas d'autres préparations. Le produit dans son emballage d'origine peut être conservé à 5—25°C jusqu'au moment de l'utilisation ou la date d'expiration. Ne pas surchauffer. Ne pas incuber ou congeler avant l'emploi. Un stockage inapproprié du produit diminue son efficacité.

DÉTÉRIORATION DU PRODUIT

Ne pas utiliser le THIOL Broth si (1) le produit présente des signes visibles d'endommagement ou de contamination ; (2) le produit présente des signes visibles de fuites du tube, (3) la date d'expiration est échuë, (4) en présence d'autres signes de détérioration visibles.

MATÉRIELS FOURNIS

Code	Product Description	Package Dimensions	Suitable for automation
4U002N	Tubes en PET dimensions 12X80 mm avec bouchon à vis percé en PE. Un tube contient 4ml de THIOL Broth.	50 unités par boîte. 50X6 unités par emballage externe	OUI

MATÉRIELS NÉCESSAIRES NON COMPRIS DANS LE KIT

Le kit ne comprend pas les matériels pour l'isolation et la culture des bactéries. Pour les protocoles relatifs aux techniques de culture et d'identification des bactéries, se reporter aux manuels de laboratoire.

INSTRUCTIONS D'EMPLOI

Pour avoir des instructions plus détaillées sur les procédures de collecte, consulter les manuels de référence publiés à ce sujet

Le système Copan Swab peut être utilisé comme système de prélèvement, transport et conservation de l'échantillon clinique. Demander le code le plus approprié à Copan et se reporter au document d'illustration pour les instructions d'emploi.

INSTRUCTIONS D'EMPLOI

OPÉRATIONS MANUELLES

- Dévisser le bouchon du tube de THIOL broth.
- Inoculer l'échantillon dans le tube ouvert.
 Pour les échantillons liquides, utiliser une oese de 10 µl ou une micropipette pour transférer l'échantillon dans le tube.
 Pour les échantillons en Swab,
 a) homogénéiser le tube pendant 10sec à 2000/2500 tours/min dans un vortex, desserrer le bouchon du tube Swab et plonger l'écouvillon dans le milieu Thiol Broth et agiter vigoureusement pendant 5/10 secondes pour transférer l'échantillon dans le milieu de croissance, jeter l'écouvillon et reboucher le tube de Thiol Broth.
 b) À l'aide d'une micropipette, transférer 30 µl de terrain Amies liquide directement dans le Thiol broth. Boucher les tubes de eSwab et THIOL Broth.

3. Homogénéiser pendant 5-10 secondes à 2000/2500 tours/min dans un vortex.
4. Incuber les tubes de THIOIOL Broth inoculés à $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
5. Examiner le tube de THIOIOL Broth après 24-48 heures. Le tube doit être contrôlé tous les jours. Si le contenu du tube est limpide, cela ne veut pas dire qu'il n'y a pas croissance microbienne.
Procéder à l'ensemencement dans un milieu approprié sur plaque. L'ensemencement sur plaque peut être exécuté moyennant ensemencement d'une partie d'échantillon à l'aide d'une micropipette ou d'une oese et en la distribuant ensuite sur une plaque. La quantité minimum conseillée pour effectuer l'ensemencement sur plaque après incubation du tube de Thiol Broth est de 1-10 µl. Incuber les plaques pendant 24-96 heures à $35 \pm 2^\circ\text{C}$ en conditions anaérobies appropriées ou selon la procédure standard de laboratoire.
6. Au terme de l'incubation, lire les plaques.
7. Il est conseillé de « plaquer » tous les jours l'échantillon de Thiol Broth inoculé.
8. Il est conseillé de contrôler tous les jours la croissance sur plaque.

OPÉRATIONS AVEC LE SYSTÈME AUTOMATIQUE (WASP™)

Le Thiol Broth peut être utilisé sur des systèmes automatiques d'ensemencement comme COPAN WASP™. Pour une utilisation correcte se reporter au manuel d'instructions pour l'emploi WASP™/WASPLab™.

LIMITES

1. Il se peut que certains échantillons difficiles aux caractéristiques spécifiques ne se développent pas dans ce milieu.
2. Les conditions et le volume de l'échantillon collecté pour la culture sont des variables significatives pour obtenir des résultats de croissance bactérienne fiables.
3. Une collecte adéquate des échantillons du patient est un facteur extrêmement critique pour l'isolation et l'identification de souches bactériennes d'intérêt.
4. Le manque de turbidité du tube de Thiol Broth n'indique pas forcément un résultat négatif.
5. Contrôler tous les jours le tube jusqu'au terme de l'incubation.
6. Il est conseillé de « plaquer » aussi bien après incubation de 24 heures qu'après une incubation de 48 heures sur milieu de croissance approprié.
7. Conserver le tube de Thiol Broth en incubation au maximum pendant 96 heures à $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

AVERTISSEMENTS

1. Pour emploi diagnostic in vitro.
2. ⚠ Le présent produit a été conçu pour une seule utilisation ; sa réutilisation peut conduire à des résultats peu fiables.
3. N'est pas approprié pour une application différente de celle prévue.
4. Suivre les lignes directrices recommandées pour la récolte des échantillons.
5. Utiliser sous hotte à flux laminaire après inoculation du produit.
6. Porter des gants et les protections proportionnelles aux précautions reconnues universellement pour la manipulation des échantillons cliniques.
7. Avant d'utiliser le présent produit associé à un test diagnostic ou un outil diagnostic, l'utilisateur doit vérifier et éventuellement valider si cela est possible.
8. Ne pas utiliser le produit s'il est visiblement endommagé.
9. Ne pas inhaler.
10. Ne pas ingérer.
11. Le fabricant ne peut pas être retenu responsable de tout emploi inadéquat ou non qualifié du produit.
12. Tous les échantillons cliniques sont potentiellement infectés et doivent être manipulés avec les précautions adéquates.
13. Le THIOIOL Broth est destiné seulement à l'emploi diagnostic in vitro, son utilisation n'est en aucun cas permise dans des buts thérapeutiques ou de prophylaxie.
14. Observer les précautions appropriées contre les dangers biologiques et appliquer les techniques aseptiques. Le produit peut être utilisé seulement par un personnel formé et qualifié comme il se doit.
15. Il faut lire et suivre attentivement les instructions.
16. Ne pas garder le tube dans des conditions d'anaérobiose pendant l'incubation.
17. Ne pas soumettre à autoclavage.
18. Ne pas filtrer.

ÉLIMINATION DES DÉCHETS

Les réactifs non utilisés peuvent être considérés comme des déchets non dangereux et être éliminés conformément aux procédures internes pour déchets non dangereux. Pour l'élimination, consulter la fiche de sécurité du produit.

Il faut traiter les réactifs utilisés et tout autre matériel jetable contaminé, conformément aux procédures relatives aux produits infectés ou potentiellement infectés. Le laboratoire doit traiter les déchets ou en les faisant traiter ou éliminer comme établi par les réglementations applicables en fonction des normes en vigueur.

PROCÉDURE DE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

TEST DE PERFORMANCE

- > À partir d'une culture fraîche, préparer une suspension 0.5 McFarland en PBS de chaque organisme ATCC.
- > Préparer une dilution série 10⁻⁴ de la suspension 0.5 McFarland
- > Inoculer avec 400 µl de la dilution en PBS directement dans le tube THIOIOL broth
- > Remettre les bouchons des tubes
- > Homogénéiser pendant 10 secondes à 2000/2500 tours/min dans un vortex
- > Pour vérifier le temps zéro, ensemer 100 µl de la suspension bactérienne sur le milieu nutritif (ex. Blood agar plate) et incuber en conditions de croissance appropriées.
- > Incuber les tubes THIOIOL à $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24-48 heures.
- > Après l'incubation, ensemer 100 µl de bouillon THIOIOL sur le milieu nutritif approprié (ex. Blood agar plate).
- > Incuber les plaques à $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24-48 heures en conditions de croissance appropriées.

LIMITES D'ACCEPTABILITÉ :

Temps zéro : UFC comptables avec un numéro compris entre 30 et 300 ufc/100µl

Temps 24 – 48 : croissance

RÉSULTATS

SOUCHE	COMPTAGE AU TEMPS ZÉRO : CFU/PLAQUE	COMPTAGE CFU APRÈS 18-24 HEURES À 35°C±2°C; CFU/PLAQUE
Peptostreptococcus anaerobius ATCC 27337 *	216	CROISSANCE
Bacteroides Vulgatus ATCC 8482*	198	CROISSANCE
Clostridium Perfringens ATCC 13124*	134	CROISSANCE
Prevotella Melaninogenica ATCC 25845	121	CROISSANCE
Propionibacterium Acnes ATCC 6919	166	CROISSANCE
Bacteroides Fragilis ATCC 25285	200	CROISSANCE
Staphylococcus aureus ATCC 25923	210	CROISSANCE

Les résultats obtenus et présentés représentent les valeurs obtenues en phase d'évaluation générale du produit.
Les résultats obtenus et présentés représentent les tests effectués au laboratoire de COPAN avec des souches ATCC.
Les résultats obtenus et présentés N'ont PAS été obtenus en utilisant des échantillons cliniques.

* : tests de performance bactérienne conduits en utilisant les souches fixées par la norme de référence CLSI-M22-A3, spécifiques pour le contrôle de qualité des terrains pour enrichissement qui prennent en considération la croissance de bactéries anaérobies.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM, Washington, D.C..
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2004. Quality Control for commercially Prepared Microbiological Culture Media. Approved Standard – Third Edition M22-A3
- Miller, J. M. 1999. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology. 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Isenberg, H. D., 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Atlas, Handbook of Microbiological Media 4th edition. CRC Press, Boca Raton FL

THIOL Broth – Beipackzettel und Gebrauchsanweisung

ANWENDUNG

Die THIOL Broth ist ein Anreicherungsmedium, das das Wachstum von fakultativen und obligaten aeroben und anaeroben Mikroorganismen fördert. Die COPAN Thiol Broth wird zur Anreicherung anaerober Bakterien verwendet, die von klinischen Probenkulturen isoliert wurden. Die THIOL Broth kann mit automatischen Systemen zur Aussaat auf Kulturschalen (Copan WASP™ und Copan WASPLab™) verwendet werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Die THIOL Broth ist ein Anreicherungsmedium, bestehend aus einer Dextrose-Pepton-L-Cystein-Lösung und Hefeextrakt, welche die wesentlichen Wachstumsfaktoren für die Bakterienreproduktion fördern. Die Hauptionen werden von Natriumchlorid geliefert. Thioglycolat-Natrium und L-Cystein wirken als reduzierende Stoffe, welche verhindern, ein niedriges Redox Potential zu erhalten und die Anoxibiose unterstützen.

Die THIOL Broth ist mit Wachstumszusätzen angereichert, wie Hämone und Vitamin K1, die die Reproduktion einiger besonders anspruchsvoller anaerober Bakterienstämme fördern.

REAGENZIEN

Komponenten der THIOL Broth:

Nombre de los componentes
L-Cystein
Natriumchlorid
Glukose
Hefeextrakt
Pankreas-verdautes-Kasein
Thioglycolat-Natrium
Hämone
Vitamin K1
Destilliertes Wasser

LAGERUNG

Die Thiol Broth ist ein gebrauchsfertiges Produkt und erfordert daher keinerlei zusätzliche Zubereitung. Das verpackte Los in der Originalverpackung kann bis zur Anwendung bzw. bis zum Verfallsdatum, das auf dem Reagenzglas und der Umverpackung angegeben ist, bei 5 - 25°C aufbewahrt werden. Nicht überhitzen! Nicht vor dem Gebrauch inkubieren oder einfrieren! Durch eine unsachgemäße Lagerung des Produkts kann die Wirksamkeit verloren gehen.

VERFALL DES PRODUKTS

Die THIOL Broth nicht verwenden, wenn: (1) das Produkt sichtbar beschädigt oder verschmutzt ist, (2) das Reagenzglas sichtbar undicht ist, (3) das Verfallsdatum abgelaufen ist oder (4) andere Anzeichen von Verschleiß sichtbar sind.

BENÖTIGTES MATERIAL, DASS ENTHALTEN IST:

Artikel-Nr.	Beschreibung des Produkts	Größe der Verpackung	Geeignet für automatische Systeme
4U002N	PET-Reagenzglas, Größe 12X80 mm mit durchbohrtem PE-Schraubverschluss. Ein Reagenzglasenthält 4 ml THIOL Broth.	50 Einheiten pro Packung 50X6 Einheiten pro Umverpackung	JA

BENÖTIGTES MATERIAL, DAS NICHT ENTHALTEN IST

Geeignete Materialien für die Kultivierung und Isolierung von Bakterien. Für die empfohlenen Protokolle über die Kultivierungs- und Identifizierungstechniken wird auf die Referenzhandbücher des Labors verwiesen.

GEBRAUCHSANWEISUNGEN

Für spezifische Anleitung in Bezug auf das Entnahmeverfahren der Proben wird auf die veröffentlichten Handbücher verwiesen. Das System Copan eSwab kann als Entnahme-, Transport- und Aufbewahrungsmedium der klinischen Probe benutzt werden. Für Hinweise über den geeignetsten Code wenden Sie sich bitte an Copan. Die Gebrauchsanweisungen für das Produkt befinden sich am Beipackzettel.

GEBRAUCHSANWEISUNGEN

MANUELLE TÄTIGKEITEN

1. Den Verschluss des Reagenzglases mit der THIOL Broth aufschrauben.
2. Die Probe in das offene Reagenzglas inokulieren.
Für flüssige Proben einen Stab mit 10 µl oder eine Mikro-Pipette verwenden, um die Probe in ein Reagenzglas zu übertragen.
Für Proben in eSwab:
a. Das Reagenzglas für 5 - 10 Sekunden bei 2.000/2500 U/min mit einem Vortex schütteln, den Deckel des Reagenzglases eSwab entfernen, den Tupfer vom eSwab-Medium in das Reagenzglas mit der THIOL Broth übertragen und für 5 - 10 Sekunden stark schütteln, um die Probe in den Anreicherungsboden zu übertragen, den Tupfer entsorgen und das Thiol Broth Reagenzglas wieder verschließen.
- b. Mit einer Mikro-Pipette etwa 30 µL flüssiges Amies-Medium direkt in die THIOL Broth übertragen. Darauf die eSwab- und Thiol Broth Reagenzgläser wieder verschließen.

3. Für 5 - 10 Sekunden bei 2.000/2.500 U/min mit einem Vortex schütteln.
4. Die Reagenzgläser mit inokulierter THIOI Broth bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubieren.
5. Die THIOI-Reagenzgläser nach 24 - 48 Stunden kontrollieren. Das Reagenzglas muss täglich kontrolliert werden. Eine Trübheit im Reagenzglas ist ein Hinweis auf mikrobielles Wachstum.
6. Die Aussaat auf einem geeigneten Boden in der Kulturschale vornehmen. Die Aussaat auf der Kulturschale kann direkt mit dem Tupferstäbchen oder mithilfe eines Anteils der Probe ausgeführt werden, die mit einem geeigneten Entnahmeanstrument (Mikropipette, Stab usw.) entnommen wird, um darauf auf der Kulturplatte verteilt zu werden. Die empfohlene Mindestmenge für das Aussäen in Kulturschale nach dem Inkubieren des Reagenzglases beträgt 1 – 10 µL. Die Kulturschalen 24 - 96 Stunden bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ unter aerobischen Bedingungen oder nach dem Standardlaborverfahren inkubieren.
7. Nach der Inkubierung die Kulturschalen lesen.
8. Es wird empfohlen, die ausgesäte Thiol Broth Probe täglich auszuplattieren.
9. Es wird empfohlen, das Wachstum in der Kulturschale täglich zu prüfen.

TÄTIGKEITEN MIT AUTOMATISCHEM SYSTEM (WASP™)

Die THIOI Broth kann mit automatischen Systemen wie Copan WASP™ verwendet werden.
Für die korrekte Verwendung wird auf die Bedienungsanleitung WASP™/WASPLab™ verwiesen.

EINERKÄNKUNGEN

1. Es ist möglich, dass einige schwierige Proben mit spezifischen Anforderungen nicht in diesem Nährmedium wachsen.
2. Der Zustand und der Umfang der entnommenen Probe sind Faktoren, welche ein zuverlässiges Bakterienwachstum stark beeinflussen.
3. Eine angemessene Sammlung der Proben am Patienten ist ein sehr kritischer Faktor bei der Isolierung und Identifizierung der untersuchten Bakterien stämme.
4. Eine Trübheit im Reagenzglas ist ein Hinweis auf mikrobielles Wachstum.
5. Das Reagenzglas täglich bis zum Ende der Inkubation prüfen.
6. Es wird empfohlen, sowohl nach einer Inkubation von 24 Stunden sowie nach einer Inkubation von 48 Stunden auf geeignete Nährböden auszuplattieren.
7. Das Reagenzglas der Thiol Broth maximal für 96 Stunden bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubieren.

HINWEISE

1. Für die In-Vitro-Diagnose.
2. ⓧ Dieses Produkt ist für die einmalige Anwendung gedacht. Bei Wiederverwendung können unzuverlässige Ergebnisse auftreten.
3. Nicht geeignet für andere Zwecke, die nicht der vorgesehenen Anwendung entsprechen.
4. Die empfohlenen Richtlinien für die Probenahme beachten.
5. Die Arbeiten unter einer Haube mit laminarer Strömung durchführen. Nach der Inokulation Handschuhe und sonstige Schutzmaßnahmen als allgemein anerkannte Vorsichtsmaßnahmen für die Handlung von klinischen Proben anziehen.
6. Die Anwendungseignung dieses Produkts für irgendwelche Diagnosetests oder Diagnoseinstrumente muss vor der Anwendung vom Benutzer geprüft und eventuell genehmigt werden.
7. Das Produkt bei sichtbaren Beschädigungen nicht benutzen.
8. Das Medium nicht verschlucken.
9. Das Medium nicht einatmen.
10. Das Medium nicht injektieren.
11. Der Hersteller kann nicht für einen unsachgemäßen oder nicht korrekten Gebrauch des Produkts verantwortlich gemacht werden.
12. Alle Proben gelten als potentiell infektiös und sind mit angemessenen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln.
13. Die THIOI Broth ist nur für die In-Vitro-Diagnose bestimmt und darf keinesfalls für therapeutische oder Prophylaxebehandlungen verwendet werden.
14. Entsprechende Vorsichtsmaßnahmen gegen biologische Gefahren treffen und aseptische Techniken anwenden. Das Produkt darf nur von entsprechend geschultem und qualifiziertem Personal angewendet werden.
15. Die Anweisungen genau lesen und befolgen.
16. Während der Inkubation darf das Reagenzglas nicht unter anaeroben Bedingungen gehalten werden.
17. Nicht autoklavieren.
18. Nicht filtern.

ABFALLBESEITIGUNG

Unbenutzte Reagenzgläser gelten als nicht gefährliche Abfälle und sind entsprechend der internen Verfahren für nicht gefährliche Abfälle zu entsorgen.
Für die Entsorgung wird auf das Sicherheitsdatenblatt des Produkts verwiesen.
Die Entsorgung der verwendeten Reagenzien und des restlichen Abfallmaterials muss nach den vorgesehenen Verfahren für infektiöse oder potentiell infektiöse Produkte erfolgen.
Das Labor muss die Abfälle wie in den anwendbaren Regelungen des jeweiligen Landes festgelegt behandeln und entsorgen (bzw. behandeln und entsorgen lassen).

VERFAHREN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

LEISTUNGSTEST

- > Mit einer frischen Kultur wird eine Suspension 0.5 McFarland in PBS für jeden ATCC Organismus vorbereitet.
- > Eine serielle Verdünnung 10 - 4 der Suspension 0.5 McFarland vorbereiten.
- > 400 µl der Verdünnung in PBS direkt in die THIOI Broth inokulieren.
- > Die Reagenzgläser wieder verschließen.
- > Das ganze für 10 Sekunden bei 2.000/2.500 U/min mittels Vortex homogenisieren.
- > Für die Kontrolle der Zeit Null werden 100 µl der bakteriologischen Suspension auf dem Nährmedium (z.B. Blood Agar Plate) ausgesät und unter angemessenen Wachstumsbedingungen inkubiert.
- > Das Reagenzglas mit der THIOI Broth für 24 – 48 Stunden bei $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ inkubieren.
- > Nach der Inkubierung 100 µl THIOI Broth auf einem angemessenen Nährmedium (z.B. Blood Agar Plate) aussäen.
- > Die Kulturschalen für 24 – 48 Stunden bei $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ unter angemessenen Wachstumsbedingungen inkubieren.

ANNAHMETAUGLICHKEITSGRENZWERTE: Zeit Null: Zählbare KBE zwischen 30 – 300 KBE/100 µL. Zeit 24 – 48: Wachstum.

ERGEBNISSE

BAKTERIENSTAMM	ZÄHLUNG BEI ZEIT NULL KBE/KULTURSCHALE	KBE-ZÄHLUNG NACH 18 - 24 STUNDEN BEI 35°C±2°C; KBE/KULTURSCHALE
Peptostreptococcus anaerobius ATCC 27337 *	216	WACHSTUM
Bacteroides Vulgatus ATCC 8482*	198	WACHSTUM
Clostridium Perfringens ATCC 13124*	134	WACHSTUM
Prevotella Melaninogenica ATCC 25845	121	WACHSTUM
Propionibacterium acnes ATCC 6919	166	WACHSTUM
Bacteroides fragilis ATCC 25285	200	WACHSTUM
Staphylococcus aureus ATCC 25923	210	WACHSTUM

Die erzielten und dargestellten Ergebnisse sind repräsentativ für die während der allgemeinen Produktbewertung erzielten Werte.
Die erzielten und dargestellten Ergebnisse sind repräsentativ für Proben beim COPAN-Labor mit ATCC-Stämmen.
Die erzielten und dargestellten Ergebnisse wurden NICHT mit klinischen Proben erzielt.

* Leistungstests wurden mit Bakterienstämmen nach den Vorgaben der Norm CLSI-M22-A3 durchgeführt, spezifisch für die Qualitätskontrolle von Anreicherungsböden, die das Wachstum anaerober Bakterien vorsehen.

Literaturverzeichnis:

- Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM, Washington, D.C..
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2004. Quality Control for commercially Prepared Microbiological Culture Media. Approved Standard – Third Edition M22-A3
- Miller, J. M. 1999. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Isenberg, H. D., 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Atlas, Handbook of Microbiological Media 4th edition 2010 CRC Press, Boca Raton, FL

CaldoTHIOL - Prospecto del producto & Guía de uso

USO PREVISTO

El Caldo THIOL es un medio de enriquecimiento que facilita el cultivo de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos, optativos u obligatorios. El Caldo THIOL se utiliza para crecimiento de bacterias anaerobias aisladas de cultivos de muestras clínicas. El Caldo THIOL puede ser utilizado en sistemas automáticos para siembra sobre placas (Copan WASP™ o Copan WASPLab™).

RESUMEN

El Caldo THIOL es un medio de enriquecimiento constituido por dextrosa, peptona y L-cistina y extracto de levadura, que otorgan los factores de crecimiento esenciales para la reproducción bacteriana. Los iones esenciales son proporcionados por el cloruro de sodio. El sodio tioglicolato y la L-cistina actúan como agentes reductores, que contribuyen a mantener un bajo potencial redox, favoreciendo la anaerobiosis. Al Caldo THIOL han sido añadidos suplementos de crecimiento tipo Hemina y Vitamina K1 que favorecen la reproducción de algunas cepas bacterianas anaeróbicas singularmente exigentes.

REACTIVOS

Componentes del Caldo THIOL:

Nombre de los componentes
L-cistina
Cloruro de sodio
Glucosa
Extracto de levadura
Digerido pancreático de caseína
Sodio tioglicolato
Hemina
Vitamina K1
Agua destilada

ALMACENAMIENTO

El Caldo THIOL es un producto ya listo para ser utilizado y no son necesarias posteriores operaciones de preparación. El lote del producto en el empaque originario puede conservarse de 5 a 25°C hasta el momento de su uso o hasta la fecha de caducidad aplicada en el tubo y en el exterior del empaque. No recalentar. No incubar o congelar antes del uso. Un almacenamiento inadecuado del producto podría causar pérdida de efectividad.

DETERIORO DEL PRODUCTO

No usar el Caldo THIOL si: (1) el producto presenta marcas visibles de daños o contaminación; (2) si hay indicios evidentes de escapes en el tubo; (3) si se ha vencido la fecha de caducidad; (4) si hay otras evidencias visibles de deterioro.

MATERIALES SUMINISTRADOS

código	Descripción del producto	Dimensiones del empaque	Apto para la automatización
4U002N	Tubos de PET, tamaño: 12X80 mm., tapón de rosca perforado en PE – Cada tubo contiene 4ml de Caldo THIOL.	50 unidades por empaque interno. 50X6 unidades por empaque externo.	SI

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

Materiales aptos para el cultivo y el aislamiento de bacterias; consultar los manuales de referencia de laboratorio en cuanto a los protocolos recomendados para las técnicas de cultivo y de identificación.

INSTRUCCIONES PARA EL USO

Para una guía específica relativa a los procedimientos de recolección de las muestras, consultar los manuales de referencia publicados. El sistema Copan eSwab puede utilizarse como sistema de toma, transporte y conservación de la muestra clínica. Consultar a Copan para pedir asesoramiento en cuanto al código más apto y consultar además el prospecto informativo sobre las instrucciones en relación a su uso.

PROCEDIMIENTOS PARA LA UTILIZACIÓN

OPERACIONES MANUALES

- Destornillar el tapón del tubo de Caldo THIOL.
- Inocular la muestra en el tubo abierto.
Para muestras líquidas utilizar asas de 10 µl o una micro pipeta de transferencia para inocular la muestra en el tubo.
Para muestras en eSwab:
a. homogeneizar el tubo por 10 segundos con vortex a 2000/2500 RPM, destornillar el tapón del tubo eSwab, sumergir el hisopo dentro del medio de Caldo THIOL y sacudir enérgicamente por 5/10 segundos para hacer desprender la muestra retenida por el hisopo en el medio de enriquecimiento, desechar el hisopo y taponar el tubo de Caldo THIOL.
b. mediante una micro pipeta transferir 30µL de medio Amies líquido, directamente en el Caldo THIOL. Taponar los tubos de eSwab y de Caldo THIOL.

3. Homogeneizar por 5-10 segundos a 2000/2500 RPM mediante vortex.
4. Incubar los tubos de Caldo THIOL inoculados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
5. Examinar el tubo del Caldo THIOL al transcurrir 24-48 Horas. El tubo debe de controlarse diariamente. La ausencia de turbiedad del Caldo no indica ausencia de crecimiento. Efectuar la siembra en el oportuno medio sobre placa. La siembra sobre placa puede efectuarse mediante siembra de una determinada cantidad de muestra recolectada con micro-pipeta o asa y esparcida luego sobre placa. La cantidad mínima aconsejada para efectuar la siembra en placa posteriormente a la incubación del tubo de caldo THIOL es de 1-10 μl .
6. Incubar las placas por 24-96 Horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ en oportunas condiciones de anaerobiosis o según los procedimientos estándar de laboratorio.
7. Al finalizar la incubación proceder a la lectura de las placas.
8. Se aconseja de verter diariamente sobre placa la muestra del Caldo THIOL inoculado.
9. Se aconseja verificar el crecimiento en las placas diariamente.

OPERACIONES CON EL SISTEMA AUTOMÁTICO (WASP™)

El Caldo THIOL puede ser utilizado en sistemas automáticos de siembra como COPAN WASP™.
Para una correcta utilización consultar el Manual de Uso WASP™ / WASPLab™.

RESTRICCIONES

1. Es posible que algunas muestras que presentan específicas condiciones no crezcan en este medio.
2. Las condiciones y el volumen de la muestra recogida para el cultivo presentan variables significativas a la hora de lograr resultados fiables sobre el crecimiento bacteriano.
3. La toma correcta de muestras al paciente es un factor extremadamente sustancial para garantizar el aislamiento y la identificación de las cepas bacterianas de efectivo interés.
4. La ausencia de turbiedad en el tubo del Caldo THIOL no es indicio de resultado negativo.
5. Controlar diariamente el tubo hasta que la incubación del mismo se haya concluido.
6. Se aconseja verter sobre placa, en apropiado medio de crecimiento, bien después de una incubación de 24 Horas, bien después de una de 48 Horas.
7. Mantener el tubo de Caldo THIOL en incubación por un tiempo máximo de 96 Horas a $35^\circ\text{C} + 2^\circ\text{C}$.

ADVERTENCIAS

1. Para utilización en diagnóstico in vitro.
2. ⓧ El presente producto ha sido pensado para un único uso; su reutilización podría conducir a resultados poco fiables.
3. No apto para cualquier tipo de aplicación que no fuera la prevista.
4. Seguir las líneas guía aconsejadas para la toma de muestras.
5. Utilizar bajo campana de flujo laminar después de la inoculación del producto, poner guantes y vestir otras protecciones según las normas vigentes sobre precauciones estándar en cuanto a la manipulación de muestras clínicas.
6. La utilización del presente producto así como cualquier test de diagnóstico y con cualquier aparato de diagnóstico debe de ser evaluada y eventualmente validada por el Usuario previamente al uso.
7. No utilizar el producto si es visiblemente dañado.
8. No ingerir.
9. No inhalar.
10. No inyectar.
11. El Productor rechaza toda responsabilidad por utilización incorrecta del producto o mediante personal no cualificado.
12. Todas las muestras son consideradas potencialmente infecciosas y se requieren oportunas precauciones para ser manipuladas.
13. El Caldo THIOL ha sido designado sólo para uso de diagnóstico in vitro y no es permitido usarlo en ningún otro caso para fines terapéuticos o para la profilaxis.
14. Cumplir con toda precaución contra el riesgo de peligro biológico y utilizar las técnicas de asepsia adecuadas. El producto puede ser utilizado sólo por personal oportunamente capacitado y formado.
15. Las instrucciones deben de ser leídas y observadas esmeradamente.
16. No tener el tubo en condiciones anaeróbicas durante la incubación.
17. No poner en autoclave.
18. No filtrar.

ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS

Los reactivos no usados pueden considerarse residuos no peligrosos y pueden, consiguientemente ser eliminados según los procedimientos estándar de laboratorio para desechos no peligrosos.

Para la eliminación consultar la ficha de seguridad del producto.

La eliminación de los reactivos usados y de cualquier otro material residual contaminado tiene que llevarse a cabo observando los procedimientos previstos para los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Es responsabilidad del laboratorio administrar los residuos, o de otra manera, pidiendo a terceros de eliminarlos en la cabal observancia de las normativas y los procedimientos previstos y vigentes del país.

PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE LA CALIDAD

PRUEBAS DE PRESTACIONES

- > A partir de un cultivo fresco, preparar una suspensión 0,5 McFarland en PBS de cada organismo ATCC.
- > Preparar una dilución serial hasta 10⁻⁴ de la suspensión 0,5 Mc Farland.
- > Inocular con 400 μl de la dilución en PBS directamente en el Caldo THIOL.
- > Volver a taponar los tubos.
- > Homogeneizar durante 10 segundos a 2000/ 2500 RPM por medio de un vortex.
- > Para el control del tiempo cero, sembrar 100 μl de la suspensión bacteriana en un medio nutritivo (por ej.: Blood agar plate) e incubar en oportunas condiciones de crecimiento.
- > Incubar el tubo de Caldo THIOL a $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24- 48 Horas.
- > Después de la incubación, sembrar 100 μl de Caldo THIOL en un oportuno medio nutritivo (por ej. Blood agar plate).
- > Incubar las placas a $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 - 48 Horas en oportunas condiciones de crecimiento.

LÍMITES DE ACEPTABILIDAD: Tiempo cero: CFU de recuento en números entre los 30 y 300 CFU / 100 μl .

Tiempo 24-48 Horas: Crecimiento

RESULTADOS

CEPA	CONTEO EN TIEMPO CERO:	CFU COUNTING AFTER 18-24 HOURS AT 35°C±2°C; CFU/PLATE
Peptostreptococcus anaerobius ATCC 27337 *	216	CRECIMIENTO
Bacteroides Vulgatus ATCC 8482 *	198	CRECIMIENTO
Clostridium Perfringens ATCC 13124 *	134	CRECIMIENTO
Prevotella Melaninogenica ATCC 25845	121	CRECIMIENTO
Propionibacterium acnes ATCC 6919	166	CRECIMIENTO
Bacteroides fragilis ATCC 25285	200	CRECIMIENTO
Staphylococcus aureus ATCC 25923	210	CRECIMIENTO

Los resultados conseguidos y exhibidos son representativos de los valores obtenidos en la fase de evaluación general del producto.

Los resultados conseguidos y exhibidos son representativos de las pruebas efectuadas en el laboratorio de COPAN con cepas ATCC.

Los resultados conseguidos y exhibidos NO han sido obtenidos utilizando muestrars clínicas.

* : pruebas de prestaciones bacterianas llevadas a cabo utilizando cepas según establecido por la normativa de referencia CLSI-M22-A3, específicas para el control de la calidad de los medios de enriquecimiento que contemplan el crecimiento de bacterias anerobias.

BIBLIOGRAFIA

- Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM, Washington, D.C..
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2004. Quality Control for commercially Prepared Microbiological Culture Media. Approved Standard – Third Edition M22-A3
- Miller, J. M. 1999. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Isenberg, H. D., 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Atlas, Handbook of Microbiological Media 4th edition 2010 CRC Press, Boca Raton, FL.

THIOL Broth- Foglio illustrativo del prodotto e Guida per l'uso

USO PREVISTO Il THIOL broth è un terreno di arricchimento che favorisce la crescita di microrganismi aerobi ed anaerobi facoltativi ed obbligati.

Il COPAN Thiol Broth è utilizzato per l'arricchimento batteri anaerobi isolati da colture di campioni clinici. Il THIOL Broth può essere utilizzato in sistemi automatici per la semina su piastra (Copan WASP™ o Copan WASPLab™).

SOMMARIO

Il THIOL broth è un terreno di arricchimento costituito da destrosio, peptone e L-cystina e estratto di lievito che forniscono i fattori di crescita essenziali per la riproduzione batterica.

Gli ioni essenziali sono forniti dal sodio cloruro. Sodio tioglicollato ed L-cystina agiscono come agenti riducenti che contribuiscono a mantenere un basso potenziale redox supportando l'anaerobiosi.

Il Thiol broth è addizionato di supplementi di crescita come Hemina e Vitamina K1 che favoriscono la riproduzione di alcuni ceppi batterici anaerobi particolarmente esigenti.

REAGENTI

Componenti del brodo THIOL Broth:

Nome dei componenti
L-cystina
Sodio cloruro
Glucosio
Estratto di lievito
Digerito pancreatico di caseina
Sodio tioglicollato
Hemina
Vitamina K1
Acqua distillata

CONSERVAZIONE Il Thiol Broth è un prodotto pronto per l'uso e non sono necessarie ulteriori operazioni di preparazione. Il lotto imballato nella confezione originale può essere conservato a 5—25°C fino al momento dell'uso o fino alla data di scadenza riportata sulla provetta e sulla confezione esterna. Non surriscaldare. Non incubare o congelare prima dell'uso. Uno stoccaggio inappropriato del prodotto può causare una perdita di efficacia.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO

Non usare il THIOL Broth se: (1) il prodotto mostra segni visibili di danni o di contaminazione; (2) ci sono indizi di perdite dalla provetta; (3) è stata superata la data di scadenza; (4) ci sono altri segni di deterioramento visibili.

MATERIALI FORNITI

codice	Descrizione del prodotto	Dimensioni della confezione	Adatto per l'automazione
4U002N	Provette in PET dimensioni 12X80mm con tappo a vite forato in PE - Una provetta contiene 4ml di THIOL Broth .	50 unità per confezione interna. 50x6 unità per confezione esterna	SI

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Materiali adeguati per la coltura e l'isolamento di batteri; riferirsi ai manuali di riferimento del laboratorio per i protocolli raccomandati per le tecniche di coltura e identificazione.

ISTRUZIONI PER L'USO

Per una guida specifica riguardante i procedimenti di raccolta dei campioni, consultare i manuali di riferimento pubblicati. Il sistema Copan eSwab può essere utilizzato come sistema di prelievo, trasporto e conservazione del campione clinico. Riferirsi a Copan per indicazioni riguardo al più appropriato codice e riferirsi al foglio illustrativo del prodotto per le istruzioni d'uso.

PROCEDURA DI UTILIZZO

OPERAZIONI MANUALI

1. Svitare il tappo dalla provetta di THIOL broth.
2. Inoculare il campione nella provetta aperta.
Per campioni liquidi, utilizzare un'ansa da 10 µl o una micro pipetta per trasferire il campione nella provetta.
Per campioni in eSwab™:
a. omogenizzare la provetta per 10sec con vortex a 2000/2500 RPM, svitare il tappo dalla provetta di eSwab, immergere il tampone all'interno del terreno Thiol Broth ed agitare vigorosamente per 5/10 secondi in modo tale da rilasciare il campione nel terreno di arricchimento, buttare il tampone e richiudere la provetta di Thiol Broth.
b. con l'utilizzo di una micro pipetta, trasferire 30µL di terreno Amies liquido direttamente nel THIOL Broth. Tappare le provette di eSwab e di Thiol Broth.
3. omogenizzare per 5-10 secondi a 2000/2500 rpm per mezzo di un vortex.
4. Incubare le provette di THIOL Broth inoculate a 35 ± 2 °C.
5. Esaminare la provetta di THIOL Broth dopo 24-48 ore. La provetta deve essere controllata quotidianamente. Un'assenza di torbidità del Brodo non

- indica l'assenza di crescita .
6. Procedere alla semina su idoneo terreno in piastra. La semina su piastra può essere eseguita mediante la semina di un'aliquota di campione prelevata con una micropipetta o un'ansa e successiva distribuzione su piastra. La quantità minima consigliabile per eseguire la semina in piastra dopo incubazione del tubo di Thiol Broth è 1-10 µl .Incubare le piastre per 24-96 ore a $35 \pm 2^\circ \text{C}$. in opportune condizioni di anaerobiosi o secondo la procedura standard di laboratorio.
 7. Al termine dell'incubazione procedere alla lettura delle piastre.
 8. Si consiglia di piastrellare quotidianamente il campione di Thiol Broth inoculato .
 9. Si consiglia la verifica della crescita in piastra quotidianamente .

OPERAZIONI CON SISTEMA AUTOMATICO (WASP™)


Il Thiol Broth può essere utilizzato su sistemi automatici di semina come COPAN WASP™.

Per il corretto utilizzo vedere il manuale d'uso WASP™ /WASPLab™.

LIMITAZIONI

1. È possibile che alcuni campioni difficili con requisiti specifici non crescano in questo terreno.
2. Le condizioni, e il volume del campione raccolto per la coltura sono variabili significative per ottenere risultati di crescita batterica affidabili.
3. Una raccolta adeguata dei campioni dal paziente, è un fattore estremamente critico per l'isolamento e l'identificazione di ceppi batterici di interesse.
4. L'assenza di torbidità della provetta di Thiol Broth non è indicativa di risultato negativo .
5. Controllare quotidianamente la provetta fino al termine dell'incubazione della stessa.
6. E' consigliato piastrellare sia dopo un incubazione di 24 ore che dopo incubazione di 48 ore su terreno appropriato di crescita .
7. Mantenere in incubazione la provetta di Thiol Broth per un massimo di 96 ore a $35^\circ \text{C} \pm 2^\circ \text{C}$

AVVERTENZE

1. Per uso diagnostico in vitro.
2.  Il presente prodotto è ideato per un uso singolo; il suo riutilizzo potrebbe portare a risultati inattendibili .
3. Non adatto per qualsiasi altra applicazione che non sia il suo uso previsto.
4. Seguire le linee guida raccomandate per la raccolta dei campioni.
5. Utilizzare sotto cappa a flusso laminare dopo inoculazione del prodotto indossare guanti e altre protezioni proporzionali alle precauzioni riconosciute universalmente per la manipolazione di campioni clinici.
6. L'utilizzo del presente prodotto insieme a qualsiasi test diagnostico o con qualsiasi strumento diagnostico deve essere valutato ed eventualmente validato , dall'utente prima dell'uso.
7. Non utilizzare il prodotto se è visibilmente danneggiato.
8. Non ingerire.
9. Non inalare.
10. Non Iniettare.
11. Il fabbricante non può essere ritenuto responsabile per qualsiasi uso inadeguato o non qualificato del prodotto.
12. Tutti i campioni clinici sono ritenuti potenzialmente infettivi e devono essere manipolati con precauzioni adeguate.
13. Il THIOI Broth è destinato solo all'uso diagnostico in vitro e in nessun caso è permesso il suo uso a scopi terapeutici o di profilassi.
14. Osservare opportune precauzioni contro i pericoli biologici e applicare tecniche asettiche. Il prodotto può essere usato solo da personale opportuna mente addestrato e qualificato.
15. Le istruzioni devono essere lette e seguite attentamente.
16. Non tenere la provetta in condizioni di anaerobiosi durante l'incubazione.
17. Non autoclavare.
18. Non filtrare.

ELIMINAZIONE DEI RIFIUTI

I reagenti non utilizzati possono essere ritenuti rifiuti non pericolosi ed essere smaltiti come da procedure interne per rifiuti non pericolosi.

Per lo smaltimento consultare la scheda di sicurezza del prodotto.

Lo smaltimento dei reagenti usati e di qualsiasi altro materiale di rifiuto contaminato deve essere effettuato seguendo le procedure previste per prodotti infetti o potenzialmente infetti.

È responsabilità del laboratorio gestire i rifiuti o facendoli trattare e smaltire come stabilito in qualsiasi regolamentazione applicabile in funzione delle norme vigenti nello stato.

PROCEDURA DI CONTROLLO QUALITÀ

TEST DI PERFORMANCE

- > Da una coltura fresca preparare una sospensione 0.5 McFarland in PBS di ciascun organismo ATCC.
- > Preparare una diluizione seriale fino a 10^{-4} della sospensione 0.5 McFarland
- > Inoculare con 400 µl della diluizione in PBS direttamente in THIOI broth
- > Ritappare i tubi
- > Omogeneizzare per 10 secondi a 2000/ 2500 RPM con vortex
- > Per la verifica del tempo zero, seminare 100 µl della sospensione batterica su terreno nutritivo (es. blood agar plate) ed incubare in opportune condizioni di crescita.
- > Incubare il tubo di THIOI brodo a $35^\circ \text{C} \pm 2^\circ \text{C}$ per 24 -48 ore
- > Dopo incubazione, seminare 100 µl di THIOI brodo su opportuno terreno nutritivo (es. Blood agar plate).
- > Incubare le piastre a $35^\circ \text{C} \pm 2^\circ \text{C}$ per 24-48 ore in opportune condizioni di crescita.

LIMITI DI ACCETTABILITÀ: Tempo zero : UFC contabili in numero compreso fra 30 e 300 UFC /100 µl

Tempo 24-48 h: crescita

RISULTATI

CEPPO	CONTEGGIO AL TEMPO ZERO: UFC/PIASTRA	CONTEGGIO CFU DOPO 18-24 ORE A 35°C±2°C; UFC/PIASTRA
Peptostreptococcus anaerobius ATCC 27337 *	216	CRESCITA
Bacteroides Vulgatus ATCC 8482*	198	CRESCITA
Clostridium Perfringens ATCC 13124*	134	CRESCITA
Prevotella Melaninogenica ATCC 25845	121	CRESCITA
Propionibacterium acnes ATCC 6919	166	CRESCITA
Bacteroides fragilis ATCC 25285	200	CRESCITA
Staphylococcus aureus ATCC 25923	210	CRESCITA

I risultati ottenuti e presentati sono rappresentativi dei valori ottenuti in fase di valutazione generale del prodotto.

I risultati ottenuti e presentati sono rappresentativi di prove eseguite presso il laboratorio di COPAN con ceppi ATCC.










I risultati ottenuti e presentati NON sono stati ottenuti utilizzando campioni clinici.

*: prove di performance batterica condotte utilizzando ceppi stabiliti dalla normativa di riferimento CLSI-M22-A3, specifici per il controllo qualità dei terreni per arricchimento che contemplano la crescita di batteri anaerobi.

BIBLIOGRAFIA

- Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. ASM, Washington, D.C..
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2004. Quality Control for commercially Prepared Microbiological Culture Media. Approved Standard – Third Edition M22-A3
- Miller, J. M. 1999. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Isenberg, H. D., 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Atlas, Handbook of Microbiological Media 4th edition 2010 CRC Press, Boca Raton, FL.

Index of Symbols/Table des Symboles/Symbole/Tabla de Símbolos/Tabella dei Simboli

Symbol/Symbole/Simbolo	Meaning/Signification/Bedeutung/Significado/Significato
	Manufacturer/Fabricant/Hersteller/Fabricante/Fabbricante
	Diagnosi in vitro
	Do no reuse/Ne pas réutiliser/Nicht zur Wiederverwendung/No reutilizar/Non riutilizzare
	Catalogue number/Référence du catalogue/Bestellnummer/Número de catálogo/Numero di catalogo
	Temperature limitation/Limites de temperature/Temperaturbegrenzung/Límites de temperatura/Limiti di temperatura
	Use by/Utiliser jusque/Verwendbar bis/Fecha de caducidad/Utilizzare entro
	Consult Instructions for Use/Consulter les instructions d'utilisation/Gebrauchsanweisung beachten/Consulte las instrucciones de uso/Consultare le istruzioni per l'uso
	Batch code (Lot)/Code de lot (Lot)/Chargencode (Chagenbezeichnung)/Código de lote (Lote)/Codice del lotto (partita)
	Contains sufficient for <n> tests/Contenu suffisant pour <n> tests/Ausreichend für <n> Tests/Contenido suficiente para <n> pruebas/Contenuto sufficiente per <n> test



Copan Italia Spa
Via Perotti, 10
25125 Brescia, Italia

Tel: +39 030 2687211
Fax: +39 030 2687250
Email: info@copanitalia.com
www.copanitalia.com

