



FAKULTET FOR NATURVITENSKAP

Institutt for bioingeniørfag

Norges teknisk- naturvitenskapelige universitet
Norwegian University of Science and Technology (NTNU)

**Vurdering av Schaedler buljong for
kultivasjon av anaerobe og kravfulle
bakterier**

**Evaluation of Schaedler broth for cultivation
of anaerobic and fastidious bacteria**

Av / by

Anna Aasen og Hege Skuggedal

Trondheim, 2021

Forord

Denne oppgaven er skrevet i forbindelse med fullføring av bachelorgrad, ved Institutt for bioingeniørfag, på Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU). Oppgaven ble gitt av Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi ved St. Olavs Hospital, og alt laboratoriearbeid relatert til oppgaven ble utført ved denne avdelingen.

Vi vil først og fremst rette en stor takk til våre veiledere ved Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi, fagansvarlig bioingeniør Hege Snøsen og spesialbioingeniør Marthe Lind Kroknes, for god opplæring, oppfølging og faglig veiledning. Vi vil også takke vår fantastiske prosessveileder ved bioingeniørutdanningen, Kine Husteli Kristiansen, for tålmodighet, engasjement og god veiledning i en hektisk skriveperiode. Til slutt vil vi takke overlege Aleksandra Jakovljević, for medisinsk og faglig veiledning, samt de ansatte ved Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi, som alltid var imøtekommende og behjelpelige.

Anna Aasen

Anna Aasen

Hege Skuggedal

Hege Skuggedal

Trondheim
Mai, 2021

Sammendrag

Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi på St. Olavs hospital bruker i dag Thioglycolat buljong som generelt anbefalt buljong for kultivasjon av anaerobe bakterier. I 2019 utførte avdelingen en preliminær studie, som viste at oppvekst av anaerobe og kravfulle bakterier i de fleste tilfeller forekom tidligere og mer rikelig ved kultivasjon i Schaedler buljong tilsatt askorbinsyre, enn i Thioglycolat buljong. Formålet med denne oppgaven er å utføre en videre evaluering om bruk av Schaedler buljong med og uten tilsats av askorbinsyre er fordelaktig i forhold til Thioglycolat buljong for dyrkning av anaerobe og kravfulle bakterier.

I prosjektet ble Schaedler buljongene fra produsentene Oxoid og Liofilchem, med og uten tilsats av 1 mg/ml askorbinsyre sammenlignet med dagens anaerob-buljong, Thioglycolat buljong. Det ble benyttet 21 fakultative og obligat anaerobe-, og syv hurtigvoksende og lite krevende bakteriestammer for å avgjøre kultivasjonsevnen til de totalt fem buljongtypene. For hver bakteriestamme ble det laget en suspensjon med høy (10^8 CFU/ml) konsentrasjon og fra denne en suspensjon med lav (10^3 CFU/ml) konsentrasjon. Suspensjonene ble deretter inokulert i de fem ulike buljongene, totalt ti buljonger for hver bakteriestamme. Buljongene ble inkubert, og veksten vurdert og gradert daglig. Når veksten var rikelig nok ble det utført en subkultivasjon fra buljongene på agar for å sikre at bakteriene var levedyktige. Til slutt ble buljongene sin kultivasjonsevne rangert fra I-V for hver av de 21 bakteriestammene, ved de to ulike konsentrasjonene.

Resultatene viser at de fleste bakteriestammene vokste tidligere og mer rikelig i Schaedler buljongene tilsatt askorbinsyre, sammenlignet med Schaedler buljongene uten askorbinsyre. Buljongene med tilsats av askorbinsyre ga stort sett like gode eller bedre kultivasjonsresultater enn Thioglycolat buljong. De vurderes derfor som gode erstatningsalternativer for dyrkning av anaerobe og kravfulle bakterier. Ut ifra undersøkelsene i dette prosjektet er Schaedler buljong tilsatt askorbinsyre fra produsenten Liofilchem det beste alternativet.

En eventuell overgang til å bruke Schaedler buljong med askorbinsyre kan effektivisere det diagnostiske arbeidet ved Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi. Det kan gjøre det mulig å kultivere anaerobe og kravfulle bakterier lettere, og dermed identifisere de tidligere enn i dag, noe som er til stor fordel for pasienten.

Abstract

The Department of Medical Microbiology at St.Olavs hospital uses Thioglycolat broth as a generally recommended broth for cultivation of anaerobic bacteria. In 2019 the department executed a preliminary study. The study showed that growth of anaerobic and fastidious bacteria occurred in most cases earlier and more abundantly, during cultivation in Schaedler broth with asorbic acid, than in Thioglycolat broth. The aim of this project is to evaluate if Schaedler broth with and without asorbic acid is more advantageous for cultivation of anaerobic and fastidious bacteria, than Thioglycolat broth.

In this project Schaedler broth from the producers Oxoid and Liofilchem, with and without additive of 1 mg/ml asorbic acid, was compared with the anaerobic broth used as todays standard, Thioglycolat broth. 21 facultative and strict anaerobic bacterial strains, and seven fast growing and non demanding bacterial strains were used to determine the cultivating ability of the five broths.

For each bacterial strain, a high (10^8 CFU/ml) concentration suspension was made, and from this a low (10^3 CFU/ml) concentration suspension was created. The suspensions were then inoculated into the five different broths, a total of ten broths for each bacterial strain. The broths were incubated and the growth was evaluated and graded daily. When the growth was adequately abundant enough, a subcultivation was performed from the broths to agar, to ensure that the bacteria were viable. Finally, each of the broths cultivating ability was ranked from I-V for each of the 21 bacterial strains, at the two different concentrations.

The results show that most bacterial strains grew earlier and more abundantly in the Schaedler broths with the addition of ascorbic acid, compared to the Schaedler broths without ascorbic acid. The broths with the addition of ascorbic acid gave generally equal or better cultivation results than Thioglycolate broth, and are therefore considered as good replacement alternatives. Based on the research in this project, Schaedler broth with added ascorbic acid from the manufacturer Liofilchem is the best alternative.

A possible transition to using Schaedler broth with ascorbic acid at the Department of Medical Microbiology can simplify the diagnostic work. It can make it possible to cultivate anaerobic and fastidious bacteria more easily, and thus identify them earlier than today, which is of great benefit to the patient.

Forkortelser

AMM - Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi

ATP - Adenosintrifosfat

CCUG - Culture Collection University of Gothenburg

CFU - Colony Forming Units

FAD - Flavin-adenin-dinukleotid

NAD - Nikotinamid-adenin-dinukleotid

RO-vann - *Reverse Osmosis* vann, også kalt omvendt osmose vann.

Innhold

Forord	I
Sammendrag	II
Abstract	III
Forkortelser	IV
Figurer	VIII
Tabeller	IX
1 Innledning	1
1.1 Anaerobe bakterier	1
1.2 Oksygentoleranse	2
1.2.1 Obligat anaerobe bakterier	3
1.2.2 Obligat aerobe bakterier	3
1.2.3 Mikroaerofile bakterier	3
1.2.4 Fakultativt anaerobe bakterier	4
1.3 Metabolisme hos bakterier	4
1.3.1 Glykolysen	4
1.3.2 Aerob metabolisme	4
1.3.3 Anaerob metabolisme med fermentering	6
1.3.4 Fakultativ anaerob metabolisme	6
1.4 Vekst og vekstbetingelser	6
1.5 Vekstmedier	7
1.5.1 Anaerobe buljonger	9

1.5.2	Asorbinsyre sin effekt på bakterievekst	10
1.6	Formålet med bacheloroppgaven	11
2	Materiale og metode	12
2.1	Bakterieisolater	12
2.2	Buljonger og utstyr	12
2.3	Tillaging av fortynningsrekker	13
2.4	Inokulering av buljonger	15
2.5	Inkubering og avlesning	15
2.6	Subkultivasjon	16
2.7	Vurdering av oppvekst	17
2.8	Identifisering av bakteriestammer ved bruk av MALDI-TOF MS	18
3	Resultater	19
3.1	Hensikten med prosjektet	19
3.2	Praktisk gjennomføring	19
3.3	Sammenligning av vekst etter antall døgn	19
3.4	Rangering av buljonger	21
3.5	Schaedler buljong	22
3.5.1	Schaedler buljong uten askorbinsyre	22
3.5.2	Schaedler buljong med askorbinsyre	22
3.6	Klinisk relevante bakteriestammer	23
3.7	CCUG-stammer og subkultivasjon	24
3.8	Erstatningsalternativer	24
4	Diskusjon	25
4.1	Evaluering av buljongene	25

4.2	Klinisk relevante bakteriestammer	26
4.3	Bakteriestammer som opplevdes som spesielt krevende	27
4.4	Generelle feilkilder og begrensninger	28
4.5	Konklusjon	28
5	Referanser	30
6	Vedlegg	32
	Vedlegg 1: Pakningsvedlegg til Fastidious Anaerobe Broth	32
	Vedlegg 2: Pakningsvedlegg til Schaedler Anaerobe Broth	34
	Vedlegg 3: Pakningsvedlegg til Schaedler Broth	36
	Vedlegg 4: De 21 bakterieisolatene benyttet i dette prosjektet	37
	Vedlegg 5: De syv CCUG-stammene benyttet i dette prosjektet	38
	Vedlegg 6: Eksempel på gradering av vekst i buljonger og vurdering av oppvekst på agar	39
	Vedlegg 7: Oversikt over vekst etter antall døgn	40
	Vedlegg 8: Rangering av buljongene	41
	Vedlegg 9: Rådata	42

Figurer

1	Eksempler på hvor noen anaerobe bakterier utgjør normalfloraen hos mennesket.	1
2	ATP-produksjon ved aerob- og anaerob respirasjon.	5
3	Eksempel på et fast medium, agar, og et flytende medium, buljong.	8
4	Ulik bakterievekst i buljonger ut ifra toleranse og behov for oksygen	9
5	Tillaging av bakteriesuspensjon med en konsentrasjon på 0,5 McFarland. . . .	14
6	10-folds fortynningsrekke fra 0,5 McFarland (10^8 CFU/ml) ned til 10^3 CFU/ml.	14
7	Inokulering av buljonger med 10^8 CFU/ml og 10^3 CFU/ml.	15
8	Gradering av vekst i buljonger.	16
9	Subkultivasjon på agar fra de 5 ulike buljongene.	17
10	Vekst etter 1-7 døgn i buljongene inokulert med lav bakteriekonsentrasjon (10^3 CFU/ml).	20
11	Antall ganger i % de ulike buljongene er rangert som det beste alternativet (som I).	21
12	Andelen bakteriestammer som vokste dårligere, og andelen som vokste like godt eller bedre i Schaedler buljongene uten askorbinsyre sammenlignet med Thioglycolat buljong.	22
13	Andelen bakteriestammer som vokste dårligere, og andelen som vokste like godt eller bedre i Schaedler buljongene med askorbinsyre sammenlignet med Thioglycolat buljong.	23

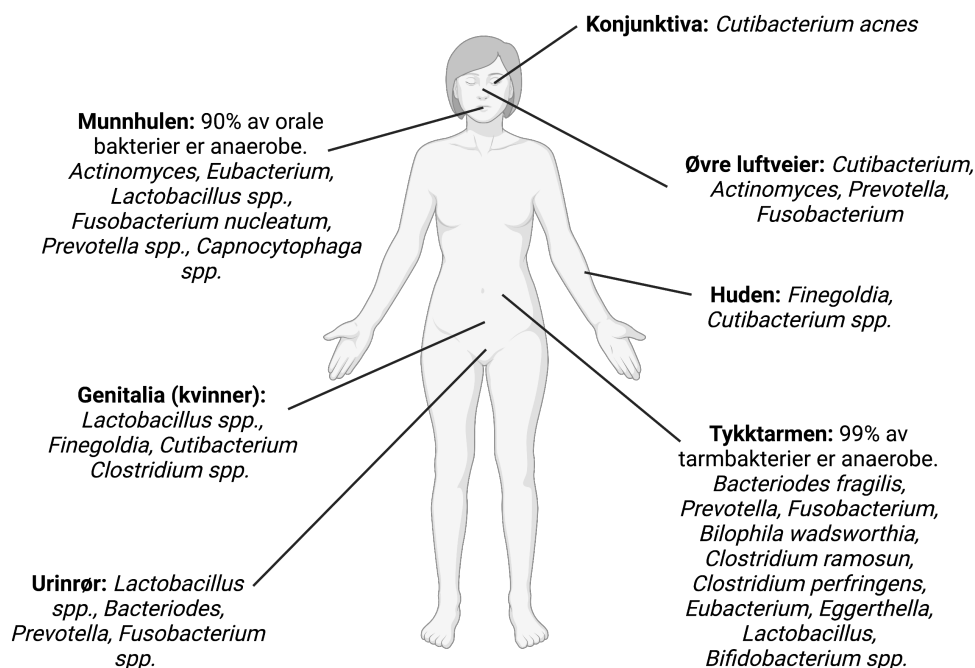
Tabeller

1	Noen hyppig forekommende anaerobe bakterier i klinisk prøvemateriale og hvor de utgjør en del av normalfloraen hos mennesket.	2
2	Innholdet i de dehydrerte mediene <i>Neogen Fastidious Anaerobe Broth</i> , <i>Oxoid Schaedler Anaerobe Broth</i> og <i>Liofilchem Schaedler Broth</i>	10
3	Oppskrift for tillaging av de ulike buljongene.	12
4	Utstyr benyttet i prosjektet.	13
5	Gradering av oppvekst.	17
6	Buljongene som gir best dyrkningsresultater av klinisk relevante bakteriestammer.	23
7	Bakterieisolater og deres metabolisme med tilhørende prøvenummer sortert i stigende rekkefølge.	37
8	CCUG-stammene og deres metabolisme med tilhørende prøvenummer sortert i stigende rekkefølge.	38
9	Eksempel på gradering av vekst og vurdering av oppvekst på agar.	39
10	Oversikt over når veksten til de ulike bakteriestammene oppstod etter antall døgn.	40
11	Rangering av buljonger ved lav (10^3 CFU/ml) og høy (10^8 CFU/ml) konsentrasjon.	41

1 Innledning

1.1 Anaerobe bakterier

Anaerobe bakterier er generelt utbredt. De finnes i naturen, i matvarer og som en stor del av den menneskelige normalfloraen (figur 1). Betegnelsen *anaerob* betyr at noe lever og vokser i fravær av oksygen [1]. Anaerobe bakterier er de vanligste bakteriene i og på menneskekroppen, der de hovedsakelig koloniserer slimhinnene i munnhulen, tarmkanalen og luftveiene [2][3]. Det finnes flere ulike arter i disse områdene, som til sammen utgjør normalfloraen i hver sine nisjer. Noen av artene er opportunistiske, det vil si at de har evne til å forårsake infeksjon og sykdom dersom balansen i normalfloraen forstyrres eller ødelegges. Infeksjon kan også oppstå dersom anaerobe bakterier kommer over i ellers sterile vev [3].



Figur 1: Modifisert figur fra Nagy et al. [4]. Eksempler på hvor noen anaerobe bakterier utgjør normalfloraen hos mennesket. Laget på *Biorender.com*

Anaerobe bakterier som er patogene for mennesket ble først oppdaget på midten av 1800-tallet. Det var imidlertid vanskelig å innhente rene kulturer for flere av disse bakteriene. I senere tid har anaerobe infeksjoner ofte blitt oversett, spesielt når de anaerobe bakteriene har vært tilstede i blandingskulturer der en eller flere aerobe eller fakultative anaerobe patogener vokser på samme medium [4]. Anaerobe bakterier kan i noen tilfeller forårsake

kritiske infeksjoner i tarmkanalen og luftveiene, samt abscess-dannelser og sepsis [2][3]. Det har derfor blitt stadig viktigere å påvise anaerobe infeksjoner [4]. På bakgrunn av dette er det ønskelig å utvikle og forbedre vekstmedier som kan effektivisere det diagnostiske arbeidet slik at anaerobe bakterier lettere kan kultiveres og dermed identifiseres tidligst mulig.

I tabell 1 er det listet opp fem relevante anaerobe bakterier som er hyppig forekommende i klinisk prøvemateriale. Fra et diagnostisk perspektiv er det ønskelig å finne vekstmedier som gir tidlig og god vekst av disse bakteriestammene.

Tabell 1: Noen hyppig forekommende anaerobe bakterier i klinisk prøvemateriale og hvor de utgjør en del av normalfloraen hos mennesket.

Bakterienavn	Normalforekomst
<i>Clostridium perfringens</i>	Tarmkanalen
<i>Bacteroides fragilis</i>	Tykkarmen
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Munnhulen og tarmkanalen
<i>Actinomyces turicensis</i>	Munnhulen og tarmkanalen
<i>Cutibacterium acnes</i>	Huden, munnhulen tarmkanalen og urinveiene

Clostridium perfringens er en vanlig årsak til matforgiftninger. Bakterien kan også forårsake mer alvorlige infeksjoner som for eksempel gassgangren. *Bacteroides fragilis* kan forårsake dype vevsinfeksjoner og abscesser i mage, luftveier og genitalia. Mikroben forekommer ofte i blandingsinfeksjoner. *B. fragilis* er også en vanlig årsak til bakteriemi. *Fusobacterium nucleatum* forårsaker ofte infeksjon i munnhulen der den medvirker i biofilmdannelse. *Actinomyces turicensis* inngår ofte i blandingsinfeksjoner i munnhulen sammen med andre munnhulebakterier [3]. *Cutibacterium acnes* er klinisk svært relevant ved proteseinfeksjoner [5].

1.2 Oksygentoleranse

Bakterier har ulik toleranse og sensitivitet for atmosfærisk oksygen. For noen bakteriearter er oksygen nødvendig for vekst og reproduksjon. Andre arter kan vokse både i tilstedeværelse og fravær av oksygen, mens for noen anaerobe bakterier er oksygen giftig [6]. Kultivasjon av anaerobe bakterier har vist seg utfordrende på grunn av deres varierende følsomhet for oksygen [4].

1.2.1 Obligat anaerobe bakterier

Obligat anaerobe bakterier inhiberes av, og kan til og med drepes av oksygen [6]. Denne typen bakterier mangler enzymer som er nødvendige for bruken av oksygen som terminal elektronmottaker, eller som uskadeliggjør toksiske produkter som dannes under fullstendig oksidasjon [1]. Obligat anaerobe bakterier kan kategoriseres etter toleranse for oksygen, som gjør at de kan klassifiseres som strikt-, moderat- eller aerotolerant obligat anaerob. Strikt obligat anaerobe bakterier tåler et partielt O₂ trykk på opptil 0,5% [7][8]. Et eksempel på en slik bakterie er *Clostridium haemolyticum* [8]. Moderat obligat anaerobe bakteriestammer er bakterier som tåler oksygennivåer mellom 2-8% [7][8]. Bakteriearter som *Bacteroides fragilis* og *Fusobacterium nucleatum* er klassifisert som moderat obligate bakterier [8]. I tillegg har man aerotolerante obligat anaerobe bakterier som tolererer atmosfærisk oksygen i et begrenset tidsrom, selv om de ikke nyttiggjør seg av det [6]. Et eksempel på en aerotolerant obligat anaerob bakterie er *Clostridium tertium* [8].

1.2.2 Obligat aerobe bakterier

Obligat aerobe bakterier krever tilstedeværelse av molekylært oksygen for metabolisme og vekst. Et eksempel på en obligat aerob bakterie er *Mycobacterium tuberculosis*. Obligat aerobe bakterier nyttiggjør seg av oksygen og bruker O₂ som terminal elektronmottaker. Disse bakteriene produserer enzymer, slik som katalase og superoxid-dismutase, som uskadeliggjør toksiske biprodukter fra aerob metabolisme. Katalase detoksifiserer hydrogenperoksid og superoxid-dismutase uskadeliggjør superoxid radikaler [9].

1.2.3 Mikroaerofile bakterier

Mikroaerofile bakterier trenger oksygen, men de har et mindre oksygenbehov enn de obligat aerobe. Disse bakteriene kan benytte seg av oksygen, men kun ved et lavere oksygennivå enn atmosfærisk oksygen. Dette skyldes oksygensensitive molekyler hos bakteriene, eller det kan skyldes en lavere respirasjonskapasitet [6]. *Campylobacter species* er vurdert som mikroaerofile bakterier, og denne arten kan forårsake infeksjoner i gastrointestinaltraktus hos mennesker. De fleste *Campylobacter* artene trenger en atmosfære bestående av 5% O₂, 10% CO₂ og 85% N₂ for optimal vekst [7].

1.2.4 Fakultativt anaerobe bakterier

De fleste bakterier med relevans til human medisinsk mikrobiologi er fakultativt anaerobe, som betyr at de vokser både i tilstedeværelsen av og i fravær av oksygen [3][9]. Denne gruppen bakterier har et variabelt forhold til oksygen, hvor noen av dem, slik som *Escherichia coli*, kan slå av og på sin respirasjon avhengig om det er oksygen til stede. Andre fakultative anaerobe bakterier, som for eksempel streptokokker, har ikke evne til å nyttiggjøre seg av oksygen, men de tar heller ikke skade av det [3].

1.3 Metabolisme hos bakterier

Metabolisme er summen av alle biokjemiske reaksjoner som foregår i en celle eller organisme [10]. Metabolismen består av to hoveddeler, katabolisme og anabolisme. Ved katabolisme blir organiske komponenter som karbohydrater, lipider og proteiner tatt opp og brutt ned for å generere energi til fundamentale prosesser i cellen. Syntese av molekyler og cellekomponenter utgjør anabolisme. Alle celler trenger en kontinuerlig energikilde til metabolisme, slik at de overlever. En viktig kilde til energi er glukose [9].

1.3.1 Glykolysen

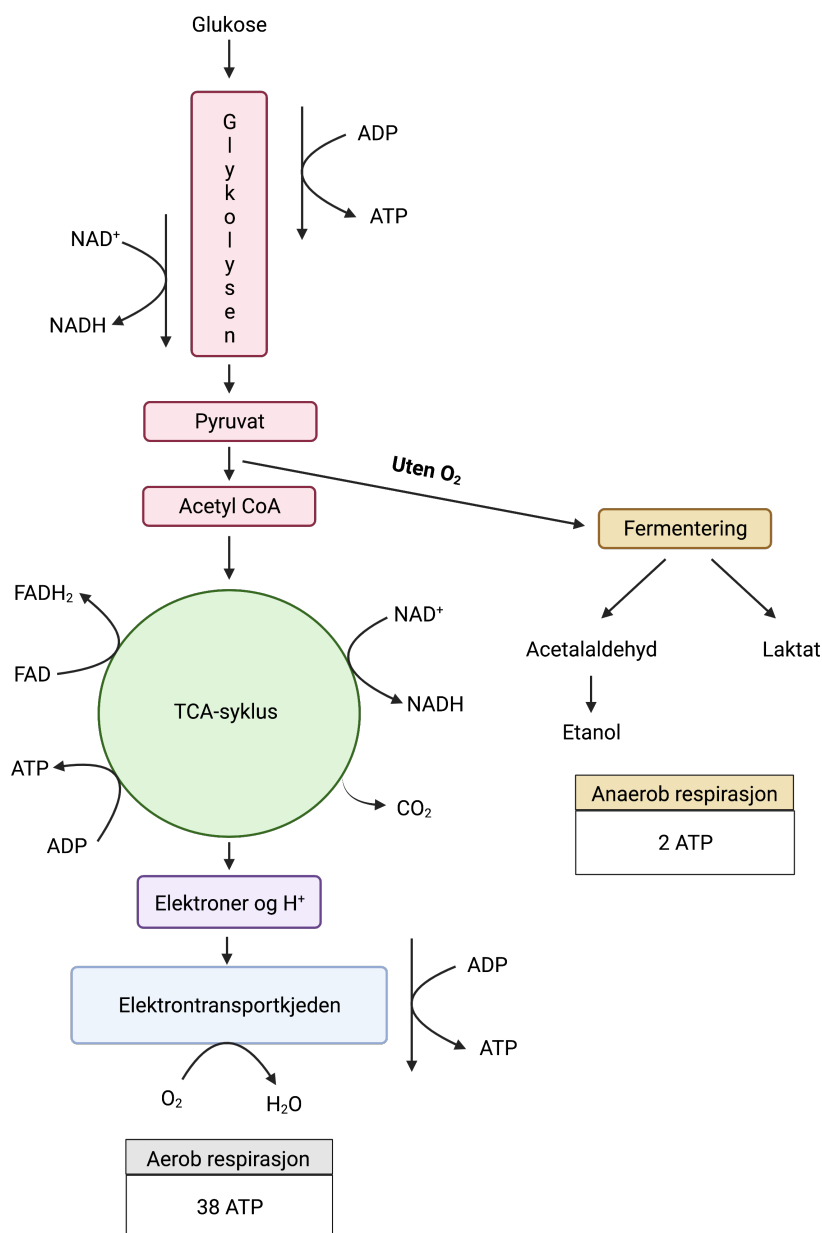
Glykolysen er omtrent universal reaksjonsvei for nedbrytning av glukose til energi (ATP), og kalles også for Embden-Meyerhof-Parnas-reaksjonsvei (EMP). Denne reaksjonsveien foregår under både aerobe og anaerobe forhold [3]. Glykolysen er sentral i metabolismen av karbohydrater siden omtrent alt sukker kan bli omgjort til glukose, og dermed gå inn i glykolysen [11].

Reaksjonsveien gir to ATP-molekyler per glukosemolekyl i tillegg til to NAD^+ og to pyruvat-molekyler [9]. ATP er den kjemiske energien som dannes fra ADP, mens NAD^+ , dannet fra den reduserte formen NADH, er den elektrokjemiske energien [3].

1.3.2 Aerob metabolisme

Ved aerob metabolisme blir pyruvat-molekylene fra glykolysen omdannet til Acetyl CoA, som fullstendig oksideres til H_2O og CO_2 gjennom trikarboksylsyresyklusen (TCA-syklusen). Denne syklusen blir også kalt sitronsyresyklusen. TCA-syklusen gjør det mulig for organismer å generere betydelig mer energi per glukosemolekyl enn ved kun glykolyse og fermentering. Gjennom TCA-syklusen konverteres elektronbærerne

NADH og FADH₂ tilbake til deres oksiderte former, og avgir da elektroner til elektrontransportkjeden som til slutt mottas av O₂ som endelig elektronmottaker. Det produseres da tre ATP-molekyler for hvert NADH-molekyl, og to ATP-molekyler for hvert FADH₂-molekyl. Aerob metabolisme kan altså produsere 19 ganger så mye energi (38 ATP-molekyler) enn anaerob metabolisme med fermentering, som vist i figur 2 [9].



Figur 2: ATP-produksjon ved aerob og anaerob respirasjon. Felles reaksjonsvei er glykolyse. Pyruvat omdannes til ulike fermenteringsprodukter ved anaerob respirasjon (uten O₂). Ved aerob respirasjon dannes Acetyl CoA fra pyruvat som går inn i TCA-syklusen, hvor elektroner og hydrogenioner videre sendes inn i elektrontransportkjeden. Laget på *Biorender.com*.

1.3.3 Anaerob metabolisme med fermentering

Fermentering er en form for anaerob metabolisme som foregår i fravær av oksygen. Obligat anaerobe bakterier benytter seg av fermentering. Denne typen metabolisme starter også med glykolysen. Glukose brytes da ned til pyruvat og fra pyruvat dannes det ulike fermenteringsprodukter [6]. Hvilket fermenteringsprodukt som dannes er avhengig av bakterien, og de kan være karakteristiske for en spesiell bakterieart eller gruppe av bakterier. Den vanligste fermenteringsprosessen hos bakterier er dannelsen av laktat (melkesyre) fra pyruvat, ved at pyruvat reduseres til laktat og NADH oksideres til NAD^+ . Fermentering til laktat er karakteristisk for streptokokker og laktobasiller. Anaerob metabolisme med fermentering genererer lite energi til bakteriene. Det produseres kun to ATP-molekyler per glukosemolekyl [9].

1.3.4 Fakultativ anaerob metabolisme

Ved fakultativ anaerob respirasjon brukes andre molekyler som terminal elektronmottaker i stedet for O_2 . Disse elektronmottakerne kan være nitrat, sulfat, jern eller andre molekyler. Under denne typen respirasjon dannes det færre ATP molekyler enn ved aerob respirasjon, siden redokspotensialet for reaksjonene med disse elektronmottakerne er mindre [9].

1.4 Vekst og vekstbetingelser

En forutsetning for vekst av bakterier er opptak av næringsstoffer som videre omsettes til byggemateriale og energi [3]. Valg av næringsstoffer, atmosfære, temperatur og inkubasjonstid er fire grunnleggende elementer som avgjør veksten til bakterier [7]. Næringsstoffer bakterier trenger er vann, nitrogen, en karbonkilde, en energikilde og noen ioner [3]. Bakterier trenger ulike sammensetninger av næringsstoffer, i ulike mengder. Enkelte næringsstoffer som karbon, nitrogen og hydrogen behøves i større mengder, og disse kalles makronæringsstoffer. Andre næringsstoffer, som jern, behøves det kun små mengder av. Slike næringsstoffer kalles mikronæringsstoffer eller sporstoffer. Selv om mikronæringsstoffer kun behøves i små mengder er de viktige for bakterier. Jern spiller for eksempel en vesentlig rolle i respirasjonen. Bakterier har likevel et større behov for makronæringsstoffer, fordi hver bakterie hovedsakelig består av makromolekyler som bygger opp proteiner, nukleinsyrer, lipider og polysakkarider [6]. Det er spesielt viktig at bakterier har tilgang på tilstrekkelig med nukleinsyrer for bakteriell vekst ved binær fisjon (todeling) [9].

Temperatur og atmosfære påvirker også bakterievekst, og hver enkelt bakteriestamme vokser optimalt innenfor spesifikke temperaturer og CO₂-konsentrasjoner. Medisinsk viktige bakterier vokser som oftest optimalt ved 35-36°C, og flesteparten av disse bakteriene kan vokse ved en CO₂ konsentrasjon som finnes i luften vi puster inn. Likevel kan selve starten av veksten være vanskelig for bakteriene uten økt CO₂-konsentrasjon. Derfor inkuberes de fleste bakterier i CO₂-inkubatorer hvor det er tilsatt av 5% CO₂ [3].

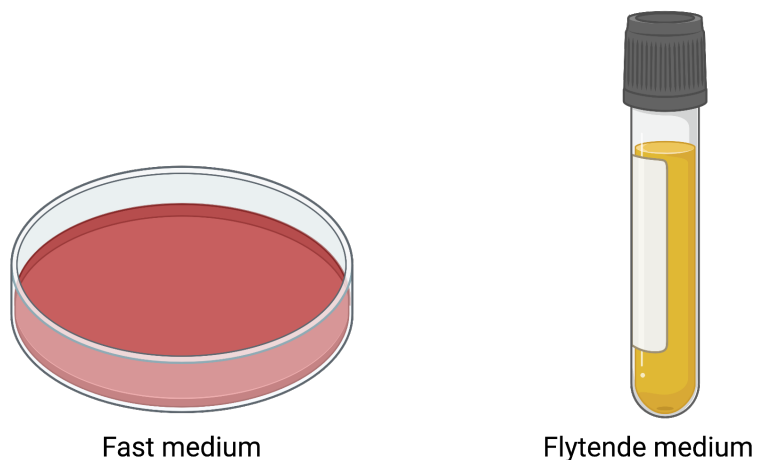
1.5 Vekstmedier

På medisinske laboratorier brukes ulike vekstmedier for at bakterier skal kunne vokse. Kulturmedier er en fellesbetegnelse på vekstmedier, og betegnes som en næringsrik løsning som brukes til vekst av bakterier. Det finnes to typer kulturmedier, definert medium og komplekst medium. Et definert medium lages ved å tilsette en spesifikk mengde organiske eller uorganiske kjemikalier til destillert vann. Komplekse medier lages av mikrobielle-, animalske-, eller planteprodukter. Dette kan være soyabønner, gjærceller eller melkeprotein. En ulempe med komplekse medier er at man ikke vet den presise sammensetningen av næringsinnholdet. Ut ifra komplekse medier kan man danne anrikningsmedier som brukes til mer næringskrevende bakterier. Anrikningsmedier inneholder komponenter som legger til rette for vekst av kravfulle bakterier [6]. Hovedkomponenten som tilsettes til denne typen medier for å fremme vekst er blod. Tilsetning av blod gir tilgang på hemin (også kalt X-faktor) og andre næringsstoffer [7]. *Haemophilus Influenzae* er i tillegg til X-faktor avhengig av NAD(P) (også kalt V-faktor) for å kunne vokse. V-faktor frigjøres fra blod ved moderat oppvarming under mediefremstilling [3].

Kulturmedier kan være både selektive og ikke-selektive for ulike mikroorganismer. Ikke-selektive medier inneholder ingen inhiberende stoffer, og skal tillate vekst av de fleste mikroorganismer som er tilstede i kliniske prøver. Selektive medier derimot, brukes for å isolere ulike mikroorganismer, slik at de lettere kan identifiseres. Slike medier kan inneholde komponenter som inhiberer vekst av noen mikroorganismer, og som favoriserer vekst av andre. Antibiotika er eksempler på stoffer som kan tilsettes for å hemme vekst av spesifikke mikrober [7].

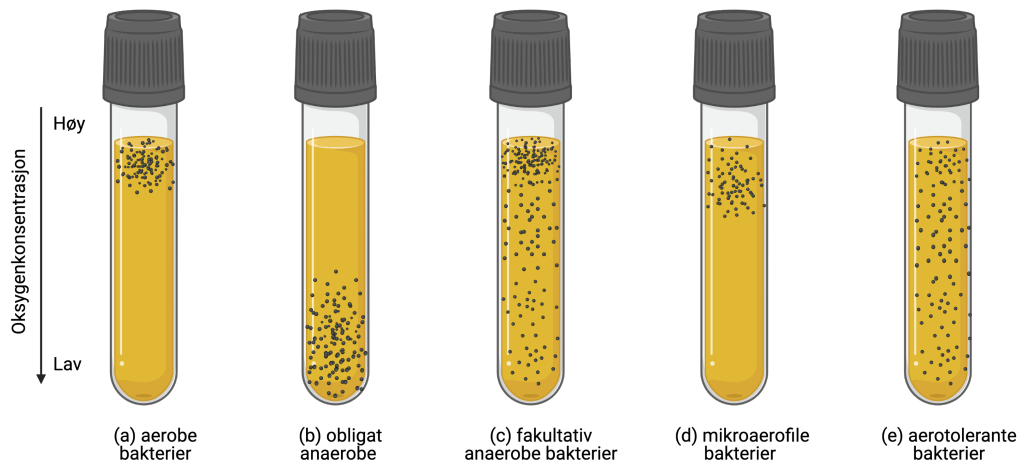
Det finnes både faste- og flytende kulturmedier, som vist i figur 3. Faste kulturmedier ligger ofte i petriskåler og kalles for *agarer*. Flytende medier, også kalt *buljonger*, brukes til oppkonsentrering av bakterier. For å danne buljonger brukes ofte dehydrerte kulturmedier som løses opp i væske. Ved kultivering av aerobe bakterier kan det være behov for tilsatt av oksygen, mens ved kultivering av anaerobe bakterier skal ikke oksygen være til stede. For å få vekst av anaerobe bakterier fylles ofte rørene helt opp

med kulturmedium, og lukkes med tette korker. Buljongene kan også være tilsatt et reduserende stoff for å fjerne O_2 ved å redusere O_2 til H_2O [6]. Et eksempel på et reduserende stoff er thioglycolat som er en komponent i Thioglycolat buljong [7].



Figur 3: Eksempel på et fast medium, agar, og et flytende medium, buljong.
Laget på *Biorender.com*

I figur 4 illustreres ulike bakteriers oksygenbehov og toleranse ut ifra deres metabolisme. Obligat aerobe bakterier vil kun vokse helt i toppen av slike buljonger, hvor mediet har kontakt med oksygen. Obligat anaerobe bakterier vil derimot kun vokse i nederste del av buljongen, der oksygen ikke klarer å trenge igjennom. Fakultative anaerobe bakterier vil vokse i hele mediet på grunn av deres metabolisme og forhold til oksygen. Mikroaerofile bakterier vil vokse nær toppen av buljongen, da disse bakteriene tolererer noe O_2 , men ikke en for høy oksygenmetning [6].



Figur 4: Modifisert figur fra Madigan et al. [6]. Ulik bakterievekst i buljonger ut ifra toleranse og behov for oksygen. Fra venstre til høyre ser man vekst av obligat aerobe bakterier (a), obligat anaerobe bakterier (b), fakultativt anaerobe bakterier (c), mikroaerofile bakterier (d) og aerotolerante bakterier (e). Bakteriekoloniene er framstilt som svarte prikker i Thioglycolat buljonger. Laget på *Biorender.com*

1.5.1 Anaerobe buljonger

Anaerobe buljonger benyttes til dyrkning av anaerobe og kravfulle bakterier. For å danne et oksygenfritt miljø for anaerobe bakterier inneholder buljonger en eller flere oksygenreducerende komponenter. Cysteine HCl er en av de vanligste oksygenreducerende komponentene benyttet i anaerobe buljonger. Det er også vanlig å kombinere flere oksygenreducerende komponenter, for å redusere oksygenet i mediet ytterligere [12]. Andre eksempler på oksygenreducerende komponenter som benyttes i anaerobe buljonger er thioglycolat og askorbinsyre [7][13].

Som en kilde til nitrogen, aminosyrer, vitaminer og mineraler inneholder buljongene en miks av peptoner og gjærekstrakt [14]. For at bakteriene skal ha tilgang til karbon og energi inneholder buljongene karbohydrater, ofte i form av glukose. Tilsetninger som hemin (X-faktor) gir bedre vekstvilkår for kravfulle bakterier, og vitamin K er fordelaktig for veksten av anaerobe bakterier [15]. Både hemin og vitamin K stimulerer veksten av for eksempel *Bacteroides*-arter [3].

Det dehydrerte kulturmediet Fastidious Anaerobe Broth fra produsenten Neogen utgjør dagens generelt anbefalte buljong på AMM, Thioglycolat buljong. Den inneholder

thioglycolat og L-Cysteine HCl som oksygenreduserende komponenter, samt hemin og vitamin K. En detaljert oversikt over innholdet i Fastidious Anaerobe Broth finnes i vedlegg 1.

Schaedler Anaerobe Broth (Oxoid) og Schaedler Broth (Liofilchem) er dehydrerte kulturmedier som inneholder hemin, og former av cysteine som oksygenreduserende komponent. Begge vekstmediene inneholder også glukose som kilde til karbon og energi. Pakningsvedlegget til Schaedler Anaerobe Broth finnes i vedlegg 2 og pakningsvedlegget til Schaedler Broth finnes i vedlegg 3. En oversikt over innholdet i de ulike dehydrerte kulturmediene er listet i tabell 2.

Tabell 2: Innholdet i de dehydrerte mediene *Neogen Fastidious Anaerobe Broth*, *Oxoid Schaedler Anaerobe Broth* og *Liofilchem Schaedler Broth*.

Neogen Fastidious Anaerobe Broth g/L	Oxoid Schaedler Anaerobe Broth g/L	Liofilchem Schaedler Broth g/L
15,0 Peptone Mixture	5,0 Special Peptone	
10,0 Yeast Extract	5,0 Yeast Extract	5,0 Yeast Extract
0,5 Sodium Thioglycolate	10,0 Tryptone Soya Broth	10,0 Tryptic Soy Broth
2,5 Sodium Chloride	0,75 Tris buffer	5,0 Tryptone
0,75 Agar	5,0 Glucose	5,0 Glucose
0,5 L-Cysteine HCl	0,4 Cysteine HCl	0,4 L-Cysteine
0,001 Resazurin		
0,4 Sodium Bicarbonate		
0,005 Hemin	0,01 Hemin	0,01 Hemin
0,0005 Vitamin K		

1.5.2 Askorbinsyre sin effekt på bakterievekst

Det er kritisk at dyrkningsmedier for obligat anaerobe bakterier ikke inneholder oksygen. For å fjerne oksygen fra dyrkningsmedier kan man bruke antioksidanter, som er stoffer som hemmer oksidasjon. Antioksidanter kan altså virke som reduserende komponenter i anaerobe buljonger [2][16].

Askorbinsyre, også kalt vitamin C, er en antioksidant [13]. I likhet med andre antioksidanter hemmer askorbinsyre oksidasjon. Det er et reduksjonsmiddel, og kan derfor redusere oksygen ved å selv bli oksidert. Askorbinsyre kan redusere fritt O₂ til H₂O ved å avgi to hydrogenmolekyler, og blir da selv oksidert til *dehydroascorbic acid* [13][17].

Små endringer ved tillaging av produsentbaserte dyrkningsmedier kan bidra til en bedre kultivasjon av obligat anaerobe bakterier. Dette viser en preliminær studie av La Scola et al.[2]. Studiet viste en forbedring av vekstvilkår til obligat og kravfulle anaerobe bakterier ved tilsetning av antioksidanter som askorbinsyre til original Schaedler-base. Tilsetning av antioksidanter i dyrkningsmedier vil altså gjøre at strikt obligat anaerobe bakterier kan vokse i aerob atmosfære [7].

1.6 Formålet med bacheloroppgaven

Thioglycolat buljong brukes i dag som generelt anbefalt buljong for kultivasjon av anaerobe og kravfulle bakterier ved Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi (AMM) på St. Olavs hospital [4]. Resultater fra en preliminær studie utført på AMM i 2019 viste at et utvalg av bakterier vokste i de fleste tilfeller tidligere og mer rikelig i Schaedler buljong tilsatt askorbinsyre.

Veksten til 21 anaerobe og kravfulle bakterier skal sammenlignes i to ulike varianter av Schaedler buljong fra produsenter som finnes på markedet i Norge, Oxoid og Liofilchem, mot veksten i Thioglycolat buljong. Bakteriene inokuleres i Schaedler buljonger med og uten tilsatt av 1 mg/ml askorbinsyre. Bakteriestammene skal testes i en høy 10^8 CFU/ml og en lav 10^3 CFU/ml konsentrasjon i buljongene. Resultatene fra denne bacheloroppgaven kan gi bakgrunn for implementering av et nytt dyrkningsmedium, som kan forbedre mikrobiologisk diagnostikk ved Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi.

Formålet med bachelorprosjektet er å finne ut om Schaedler buljong, med og uten tilsatt av askorbinsyre, er fordelaktig i forhold til Thioglycolat buljong for dyrkning av anaerobe og kravfulle bakterier.

2 Materiale og metode

2.1 Bakterieisolater

I dette valideringsstudiet ble det benyttet 21 fakultative og obligat anaerobe stammer fra frysearkiv, tidligere isolert og identifisert fra klinisk prøvemateriale på Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi. Bakterieisolatene var utvalgt av overlege ved avdelingen, og skulle dekke et bredt spekter av anaerobe og kravfulle bakterier. En oversikt over isolatene finnes i vedlegg 4. Eksempler på noen isolater som ble benyttet er *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces turicensis*, og *Cutibacterium acnes*. Det ble i tillegg benyttet syv CCUG-stammer for å forsikre at hurtigvoksende og lite krevende bakteriestammer også vokser i buljongene (vedlegg 5).

2.2 Buljonger og utstyr

Fire ulike varianter av Schaedler buljong fra produsentene Oxoid og Liofilchem med og uten tilsetning av askorbinsyre, samt referansebuljongen Thioglycolat ble benyttet. Buljongene består av ulike dehydrerte kulturmedier som løses opp i RO-vann. Schaedler buljongene fra produsentene Oxoid og Liofilchem tilsettes også *Bacteriological Agar* og eventuelt askorbinsyre. Buljongene ble laget av Avdeling for Substrat og Spesialvask før oppstart av prosjektet. Oppskrift for tillaging er vist i tabell 3.

Tabell 3: Oppskrift for tillaging av de ulike buljongene. * Ved tilsetning av 1 mg/ml askorbinsyre vil pH reduseres til 6,8.

Thioglycolat buljong Neogen pH 7,2	Schaedler buljong Oxoid *pH 7,6	Schaedler buljong Liofilchem *pH 7,6
59,40 g Fastidious Anaerobe Broth	26,50 g Schaedler Anaerobe Broth	25,40 g Schaedler Broth
2,0 L RO-vann	0,98 L RO-vann	0,98 L RO-vann
	1,0 g Bacteriological Agar	1,0 g Bacteriological Agar
	* 1,0 mg/ml Askorbinsyre	* 1,0 mg/ml Askorbinsyre

Utstyr og instrumenter benyttet for å utføre prosjektet er listet i tabell 4.

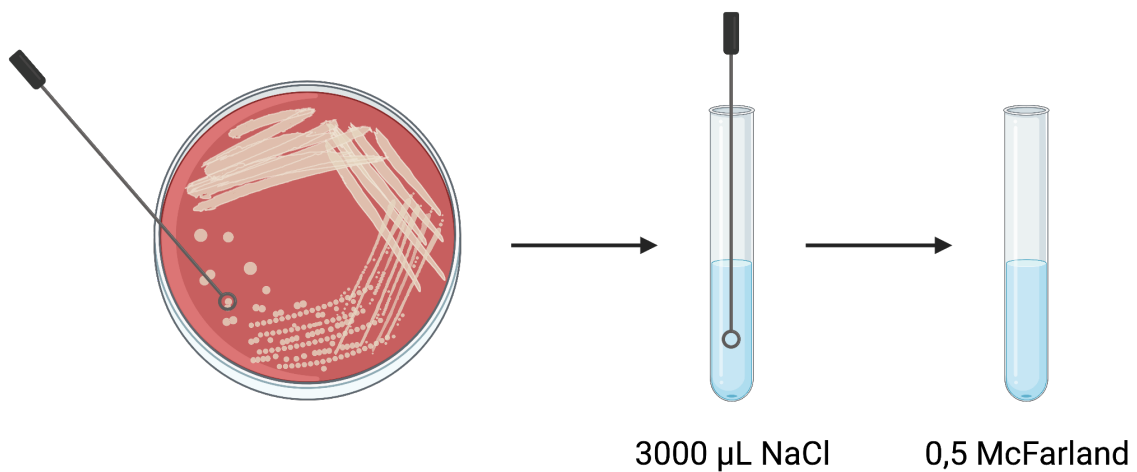
Tabell 4: Utstyr benyttet i prosjektet.

Utstyr benyttet i prosjektet	
Buljonger	Thioglycolat buljong Schaedler buljong Liofilchem Schaedler buljong Liofilchem med askorbinsyre Schaedler buljong Oxoid Schaedler buljong Oxoid med askorbinsyre
Agarer	FAA-agar Sjokoladeagar Blodagar
Pipetter	10 - 100 μL 100 - 1000 μL
Inkubatorer	Whitley A35 Anaerobic Workstation Thermo Electron Corporation Steri-Cycle CO_2 Incubator
Instrumenter	MALDI-TOF MS Microflex LT/SH (Bruker) Densitometer DEN-1/1B (Biosan)
Annet utstyr	Eppendorfrør Vortexer IKA MS3 Basic 0,9% NaCl Øse

2.3 Tillaging av fortynningsrekker

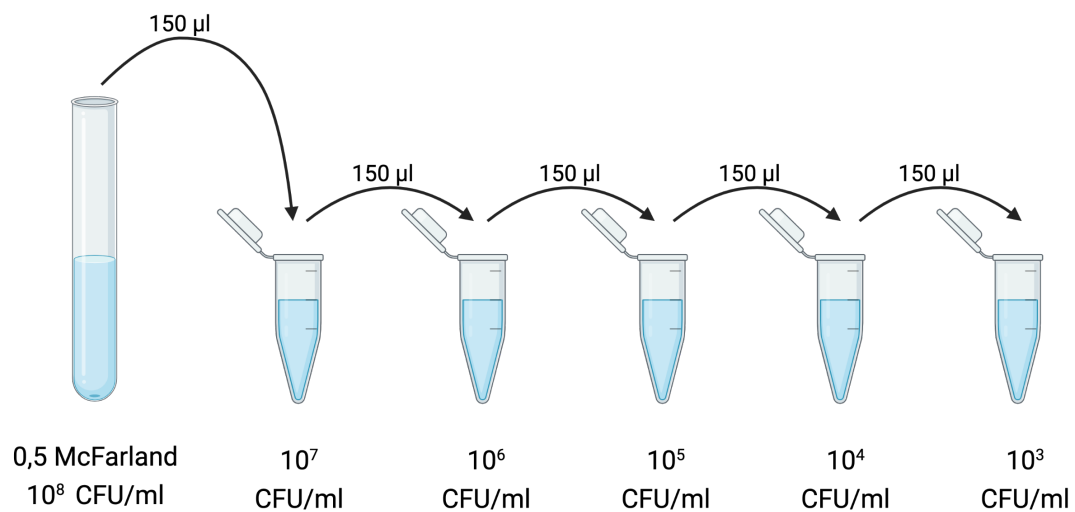
De 21 anaerobe og kravfulle bakterieisolatene ble tatt opp fra frysearkiv og spredd på reduserte FAA-agarer, mens CCUG-stammene ble spredd på sjokolade-, eller blodagarer. Dette ble utført for å ha ferske kolonier slik at bakteriestammene hadde optimale forutsetninger for videre vekst.

For hvert bakterieisolat ble det laget en suspensjon med en turbiditet på 0,5 McFarland, som tilsvarer en konsentrasjon på 10^8 CFU/mL. Hver bakteriesuspensjon ble laget ved å slemme kolonier fra agar i 3000 μL 0,9 % NaCl (figur 5). Tettheten til suspensjonene ble målt med et densitometer.



Figur 5: Tillaging av bakteriesuspensjon med en konsentrasjon på 0,5 McFarland. Laget på *Biorender.com*

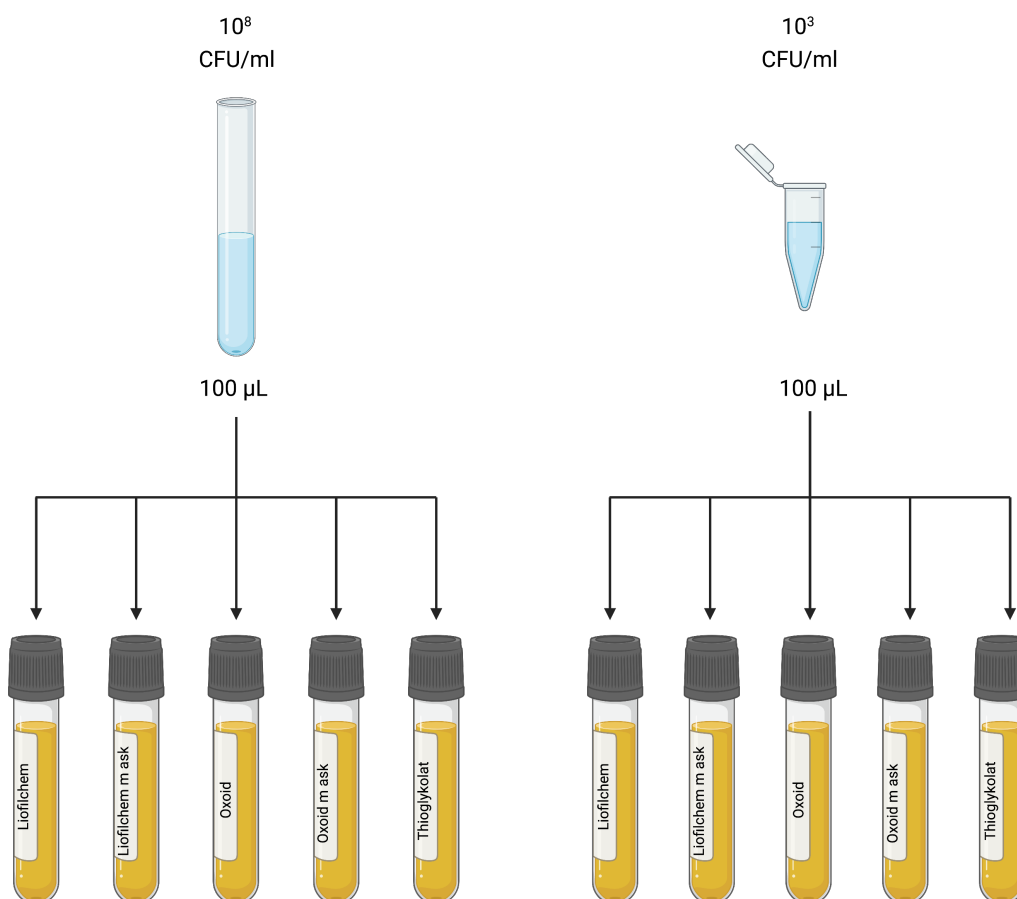
Det ble videre satt opp en 10-folds fortynningsrekke fra hver bakteriesuspensjon på 0,5 McFarland ned til 10^3 CFU/ml i eppendorfrør tilsatt 1350 µL 0,9 % NaCl. Dette ble utført som vist i figur 6. Mellom hver 10-folds fortynning ble eppendorfrørene vortexet i 5-10 sekunder.



Figur 6: 10-folds fortynningsrekke fra 0,5 McFarland (10^8 CFU/ml) ned til 10^3 CFU/ml. Laget på *Biorender.com*

2.4 Inokulering av buljonger

For hvert bakterieisolat ble det benyttet suspensjoner med en høy (10^8 CFU/ml) og en lav (10^3 CFU/ml) konsentrasjon. 100 μ L fra hver suspensjon ble tilsatt i de fem buljongene, totalt ti buljonger per isolat (figur 7). Suspensjonene ble tilsatt i bunnen av buljongrøret, hvor det er minst oksygen. Obligat anaerobe bakterier vil vokse kun i bunnen av røret, mens mer aerotolerante bakterier vokser nærmere toppen (figur 4).

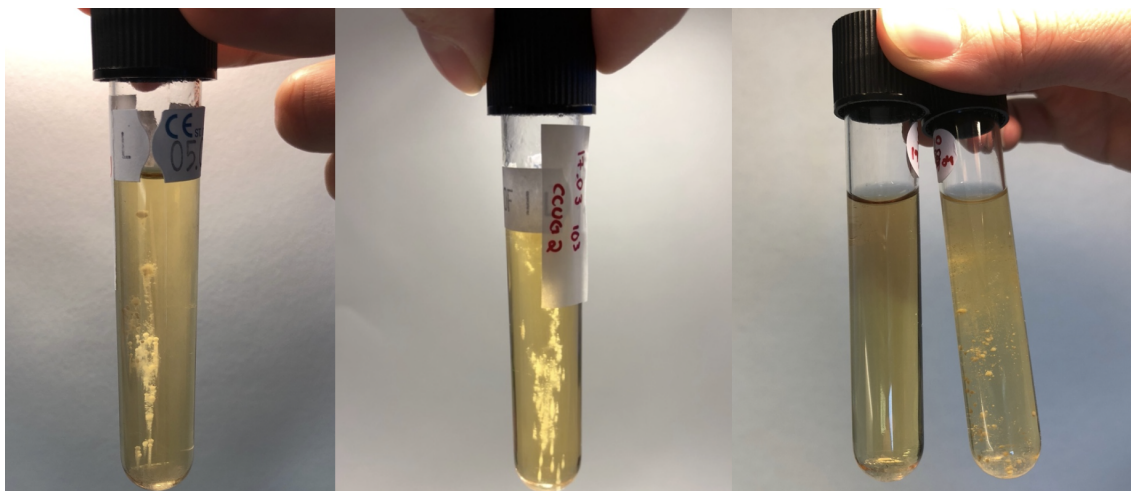


Figur 7: Inokulering av buljonger med 10^8 CFU/ml og 10^3 CFU/ml. Laget på *Biorender.com*

2.5 Inkubering og avlesning

Etter inokulering av buljongene ble de inkubert i *Thermo Electron Corporation Steri-Cycle CO₂ Incubator* i inntil 7 døgn. Inkubatoren hadde en temperatur på 35 ± 2 °C og en tilsats av 5% CO₂. Eventuell bakterievekst i buljongene ble kontrollert hvert døgn. Veksten ble gradert fra 1 til 5, der 1 er meget sparsom vekst og 5 er god vekst/blakking av buljongen. Var det ingen vekst i buljongen ble dette også notert. Graderingen ble gjort ved å sammenligne buljongene for én mikrobe i samme konsentrasjon. I figur 8 ser man

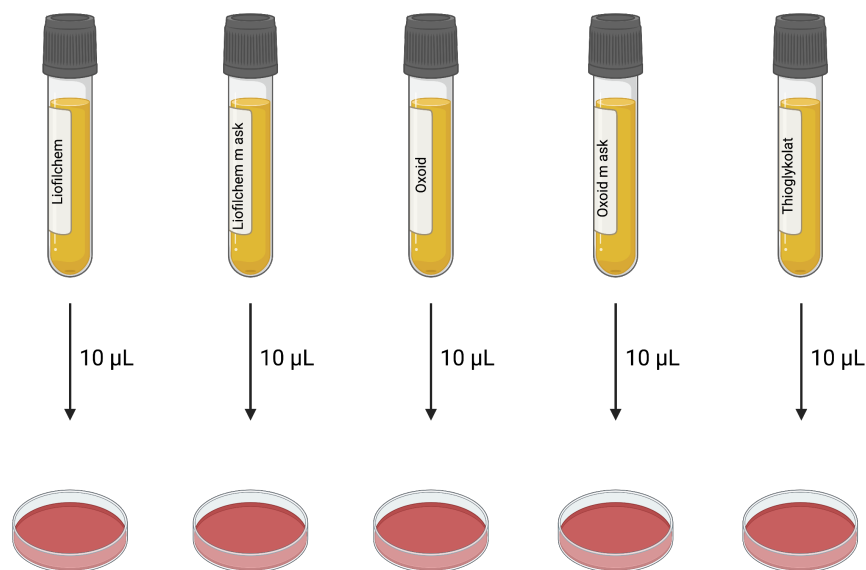
eksempler på gradering av vekst i buljonger. Et eksempel på hvordan gradering av veksten til de ulike bakteriestammene ble utført er vist i vedlegg 6.



Figur 8: Gradering av vekst. Buljongen til venstre har vekst gradert som 3, mens den i midten har vekst gradert som 4. Av de to buljongene til høyre har den ene ingen vekst, mens den helt til høyre har vekst gradert som 4.

2.6 Subkultivasjon

Subkultivasjon ble utført som en kontroll på at det er vekst i buljongene, og at bakteriene er levedyktige. I diagnostikken er det viktig at bakteriene vokser godt på agar for å kunne identifisere de. I dette prosjektet ble derfor buljonger med vekst gradert fra 2-5 subkultivert på agar, som vist i figur 9. 10 μL fra et område med synlig og god vekst i buljongen ble pipettert og spredd på agar. De 21 obligat og fakultative bakteriestammene ble spredd på FAA-agarer, mens CCUG-stammene ble spredd på sjokolade- og blodagarer. I buljongene med ingen vekst etter syv døgn ble det utført blindutsåing ved å pipettere 10 μL fra bunnen av buljongen og spre på respektiv agar. Dersom buljongene hadde vekst vurdert til 1 det syvende døgnet ble de inkubert videre. Dette ble gjort for å kontrollere om det ble mer vekst. Dersom veksten ikke endret seg eller økte ble det utført subkultivering på det åttende døgnet.



Figur 9: Subkultivasjon på agar fra de 5 ulike buljongene. Laget på *Biorender.com*

Spredningene på sjokolade- og blodagar ble inkubert i 35 ± 2 °C i *Thermo Electron Corporation Steri-Cycle CO₂ Incubator*, mens spredningene på FAA-agarer ble inkubert i *Whitley A35 Anaerobic Workstation* ved 35 ± 2 °C. Agarskålene ble inkubert i inntil 5 døgn.

2.7 Vurdering av oppvekst

Agarene ble vurdert daglig, og veksten ble angitt som ingen vekst, slørvekst, sparsom- (SV), moderat- (MV) eller rikelig vekst (RV) etter antall kolonier (tabell 5). Slørvekst defineres som antydning til vekst på agaren. Et eksempel på hvordan vurdering av oppveksten til de ulike bakteriestammene på agar ble utført er vist i vedlegg 6.

Tabell 5: Gradering av oppvekst.

Type vekst	Antall kolonier
Sparsom vekst	1-10
Moderat vekst	10-50
Rikelig vekst	>50

2.8 Identifisering av bakteriestammer ved bruk av MALDI-TOF MS

Underveis i prosjektet ble alle bakteriestammene identifisert ved å bruke instrumentet MALDI-TOF MS (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry*). Identifikasjonen ble utført som en kontroll på at bakteriestammene ikke var forurenset. MALDI-TOF MS er et massespektrometer som bruker en laser for å ionisere molekylene og overfører de til gassform ved hjelp av en matrix. Deretter separerer instrumentet ionene i henhold til deres masse-ladnings (m/z) ratio, og ionene strømmer gjennom et rør. Ved enden av røret registrerer en detektor de ulike ionene ut ifra hvilke som kommer først. For hver bakteriestamme dannes det et spekter som instrumentet sammenligner med en database av kjente mikrober og ut ifra dette gir en score på ID. En høy ID-score indikerer en god identifikasjon av mikroben [18].

3 Resultater

3.1 Hensikten med prosjektet

Hensikten med bachelorprosjektet er å undersøke om Schaedler buljong med og uten askorbinsyre gir bedre dyrkningsresultater enn dagens Thioglycolat buljong ved dyrkning av anaerobe og kravfulle bakterier. For å undersøke dette ble det utført en valideringsstudie. Veksten til 21 anaerobe og kravfulle bakterier, samt syv CCUG-stammer i Schaedler buljong, med og uten askorbinsyre, ble sammenlignet med veksten i Thioglycolat buljong. Schaedler buljong fra produsentene Oxoid og Liofilchem ble benyttet.

3.2 Praktisk gjennomføring

For å sammenligne og vurdere kultivasjonsevnen til de fem ulike buljongene ble det laget suspensjoner for hvert av de 21 bakterieisolatene fra frysearkiv, og for de syv CCUG-stammene. Det ble først laget en suspensjon på 0,5 McFarland, og fra denne en 10-folds fortynningsrekke. 100 μL fra høy (10^8 CFU/ml) og lav (10^3 CFU/ml) konsentrasjon ble tilsatt i de fem buljongene, totalt ti buljonger per isolat. Buljongene ble deretter inkubert i inntil 7 døgn. Veksten ble vurdert etter hvert døgn og gradert i verdi fra 1-5. Graderingen ble gjort ved å sammenligne buljongene for et bakterieisolat i samme konsentrasjon.

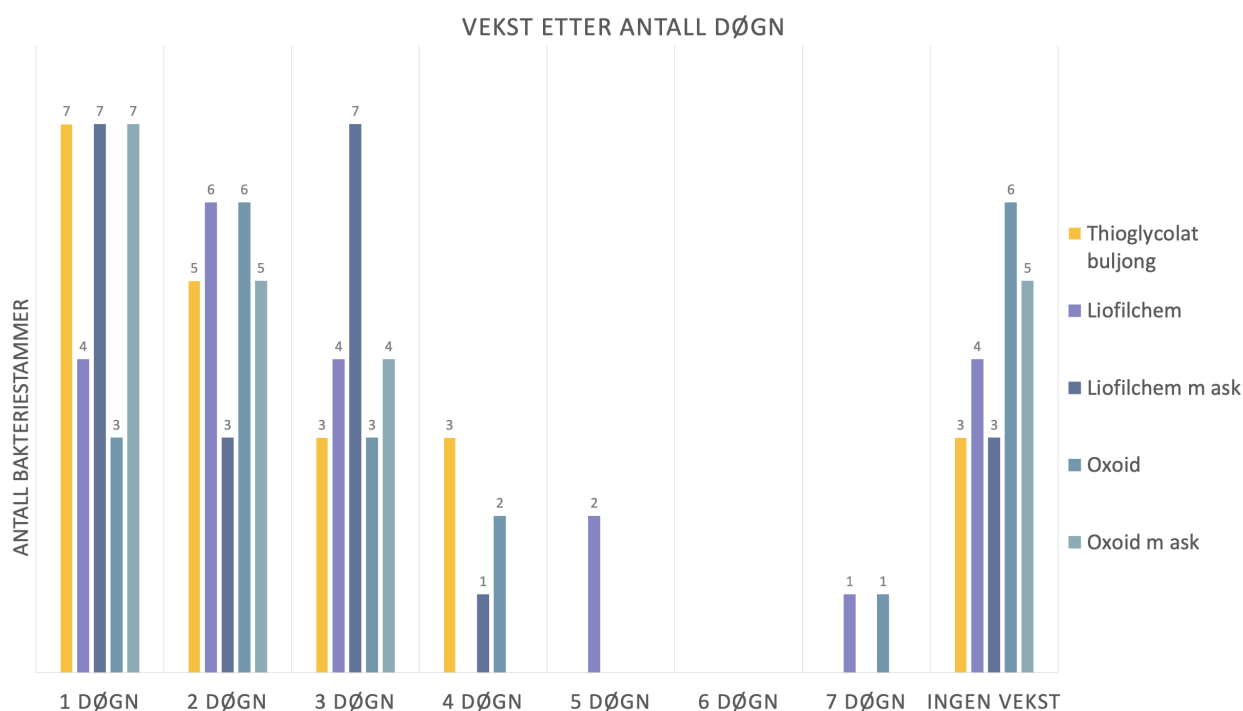
Når veksten var fra grad 2-5, ble 10 μL fra buljongen spredd på FAA-agar (anaerobe og kravfulle bakterier) eller sjokolade- og blodagar (CCUG-stammer). Ved ingen vekst i buljongen etter 7 døgn ble det utført en blindutsåing. Spredningene ble inkubert i inntil 5 døgn. Veksten ble vurdert etter hvert døgn, og angitt som ingen vekst, slørvekst, sparsom- (SV), moderat- (MV) eller rikelig vekst (RV).

3.3 Sammenligning av vekst etter antall døgn

For å finne ut hvilke buljonger som ga best vekst etter x antall døgn ble de ulike buljongene inokulert med lav (10^3 CFU/ml) og høy (10^8 CFU/ml) konsentrasjon lest av og vurdert daglig. Resultatene viser større variasjon av vekst i buljongene inokulert med lav (10^3 CFU/ml) konsentrasjon, enn de med høy (10^8 CFU/ml) konsentrasjon. I buljongene inokulert med høy konsentrasjon vokste de fleste bakteriestammene relativt hurtig, men med noen unntak, for eksempel *Parvimonas micra* og *Prevotella nanciensis* (vedlegg 7). Flertallet av bakteriestammene hadde vekst i buljongene etter 1 døgn ved

høy konsentrasjon. På grunn av dette vektlegges resultatene med lav konsentrasjon (10^3 CFU/ml) for å avgjøre om Schaedler buljong er fordelaktig i forhold til Thioglycolat buljong.

Det var vesentlige forskjeller i hvilket døgn veksten oppstod i de ulike buljongene inokulert med lav konsentrasjon, som vist i vedlegg 7. For noen bakteriestammer var det også tilfeller av ingen vekst. For å illustrere antall bakteriestammer som hadde vekst ved ulike døgn i buljongene ble det utformet et søylediagram, som er fremstilt i figur 10. Referansebuljongen Thioglycolat buljong er fremhevet med gul, og Schaedler buljongene sammenlignes mot denne. Thioglycolat buljong og Schaedler buljongene Liofilchem og Oxoid med askorbinsyre hadde høyest antall bakteriestammer med vekst etter 1 døgn.



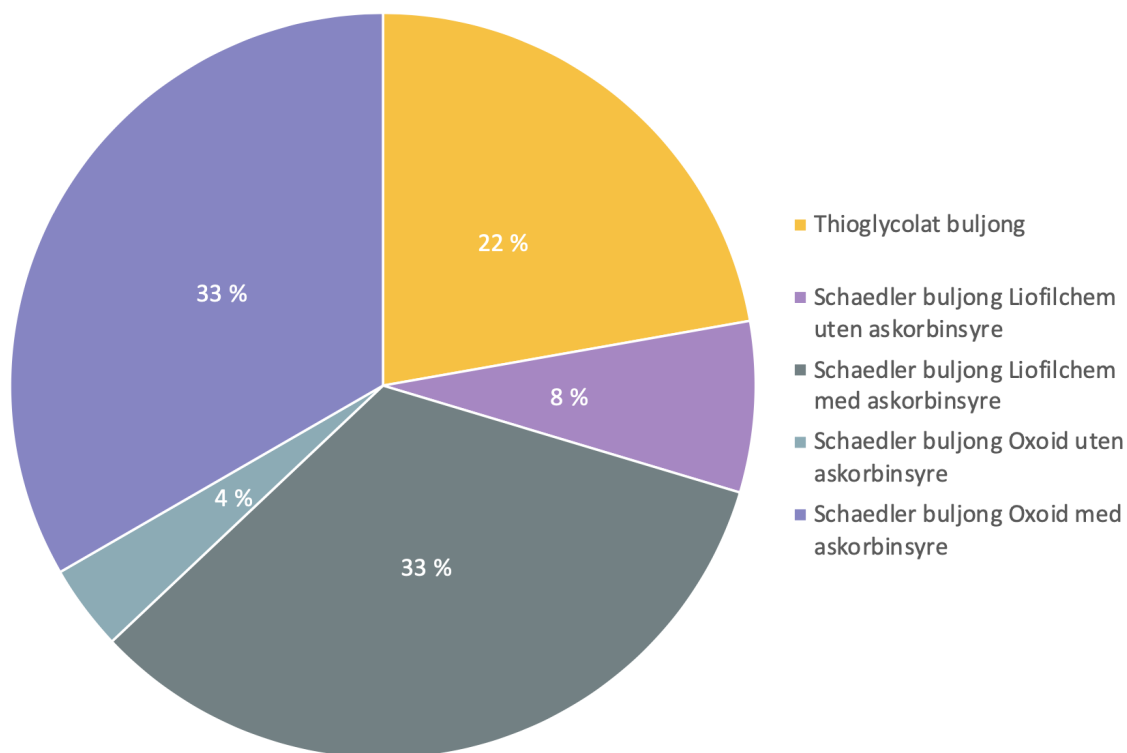
Figur 10: Vekst etter 1-7 døgn i buljongene inokulert med lav bakteriekonsentrasjon (10^3 CFU/ml). Antall bakteriestammer som ikke hadde vekst i løpet av 7 døgn er vist i kolonnen til høyre.

Schaedler buljong Oxoid med og uten askorbinsyre hadde flest bakteriestammer med ingen vekst i løpet av 7 døgn. Schaedler buljong Oxoid uten askorbinsyre hadde ingen vekst av 6 bakteriestammer, mens Schaedler buljong Oxoid med askorbinsyre hadde ingen vekst av 5 bakteriestammer. Schaedler buljong Liofilchem uten askorbinsyre hadde ingen vekst av 4 bakteriestammer. I Thioglycolat buljong og Schaedler buljong Liofilchem med askorbinsyre hadde 3 bakteriestammer ingen vekst. Bakteriestammene *Prevotella nanciensis* og *Capnocytophaga sputigena* vokste ikke i noen av de fem buljongene.

3.4 Rangering av buljonger

Referansebuljongen Thioglycolat buljong og Schaedler buljongene med og uten askorbinsyre er rangert fra I-V for hvert av de 21 bakterieisolatene. Dette ble gjort for å sammenligne hvilke buljonger som var det beste dyrkningsmediet for flest bakteriestammer. Rangeringen av de ulike buljongene ved lav (10^3 CFU/ml) og høy (10^8 CFU/ml) konsentrasjon finnes i vedlegg 8. Buljongene rangert som I hadde hurtigst og mest rikelig vekst, mens buljongene rangert som V hadde langsom og mest sparsom til ingen vekst. Hvert av de 21 bakterieisolatene har en til flere buljonger de vokser best i, og en til flere buljonger de vokser dårligst i.

Schaedler buljong Liofilchem og Oxoid med askorbinsyre er rangert som de beste dyrkningsmediene for flest bakteriestammer (33%), som vist i figur 11. Thioglycolat buljong er det nest beste alternativet (22%), bedre enn Schaedler buljong Liofilchem uten askorbinsyre (8%) og Schaedler buljong Oxoid uten askorbinsyre (4%).



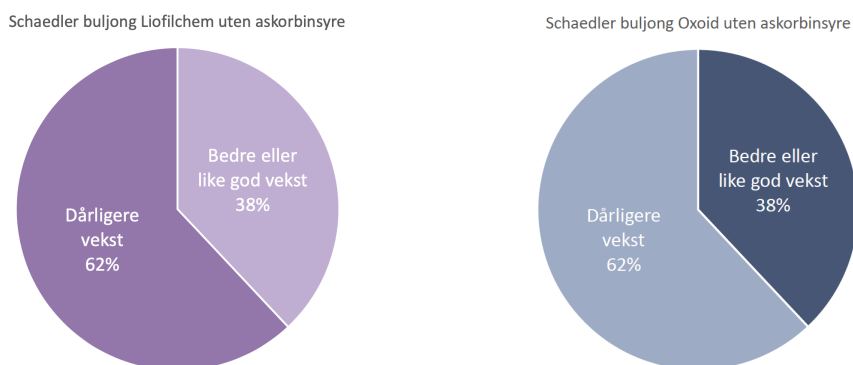
Figur 11: Antall ganger i % de ulike buljongene er rangert som det beste alternativet (som I).

3.5 Schaedler buljong

For å evaluere om Schaedler buljongene kan være mulige erstatningsalternativer for Thioglycolat buljong ble rangeringene deres sammenlignet med referansebuljongen. De fire ulike variantene av Schaedler buljong er vurdert som dårligere hvis de har en lavere rangering (I-V) enn Thioglycolat buljong. De vurderes som like gode eller bedre enn Thioglycolat buljong hvis de har tilsvarende eller høyere rangering.

3.5.1 Schaedler buljong uten askorbinsyre

Andelen bakteriestammer som hadde dårligere vekst i Schaedler buljongene uten askorbinsyre, og andelen som hadde like gode eller bedre vekst enn referansebuljongen er framstilt i figur 12. Buljongene uten askorbinsyre har lik andel dårligere vekst (62%), og lik andel like god eller bedre vekst enn Thioglycolat buljongen (38%). Schaedler buljongene Liofilchem og Oxoid uten askorbinsyre er dårligere dyrkningsalternativer enn dagens Thioglycolat buljong.

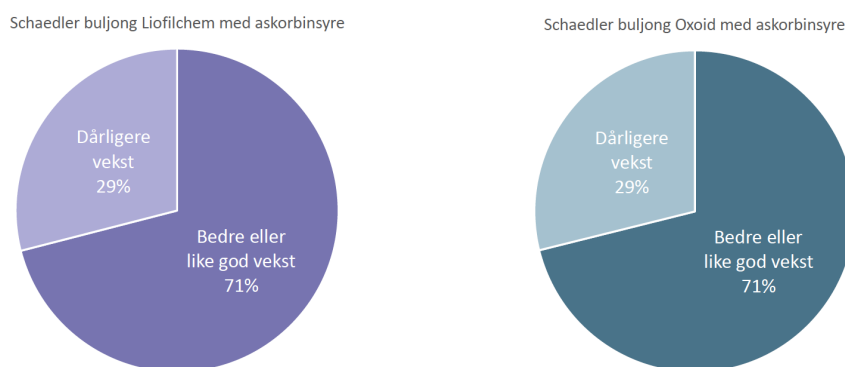


Figur 12: Andelen bakteriestammer som vokste dårligere, og andelen som vokste like godt eller bedre i Schaedler buljongene (Liofilchem og Oxoid) uten askorbinsyre sammenlignet med Thioglycolat buljong.

3.5.2 Schaedler buljong med askorbinsyre

Schaedler buljong med askorbinsyre viser gode kultivasjonsresultater sammenlignet med referansebuljongen. I figur 13 er veksten i Schaedler buljongene Liofilchem og Oxoid med askorbinsyre vurdert mot veksten i Thioglycolat buljong. Schaedler buljongene med askorbinsyre fra begge produsentene viser like god eller bedre vekst enn Thioglycolat buljong for 71% av bakteriestammene. Begge buljongene hadde også like stor andel

bakteriestammer med dårligere vekst (29%) sammenlignet med referansebuljongen.



Figur 13: Andelen bakteriestammer som vokste dårligere, og andelen som vokste like godt eller bedre i Schaedler buljongene (Liofilchem og Oxoid) med askorbinsyre sammenlignet med Thioglycolat buljong.

3.6 Klinisk relevante bakteriestammer

De fem relevante anaerobe bakteriene som er hyppig forekommende i klinisk prøvemateriale, og hvilke buljonger som gir best kultivasjonsresultater for hver bakterie er listet opp i tabell 6. Thioglycolat buljong og Schaedler buljong Liofilchem med askorbinsyre var de beste buljongene for 2 av de 5 klinisk relevante bakteriestammene. Schaedler buljong Oxoid var best for 3 av 5 bakteriestammer.

Tabell 6: Buljongene som gir best dyrkningsresultater av klinisk relevante bakteriestammer.

Bakterienavn	Foretrukket buljongtype
<i>Clostridium perfringens</i>	Schaedler buljong Oxoid med askorbinsyre
<i>Bacteroides fragilis</i>	Thioglycolat buljong, Schaedler buljong Liofilchem og Oxoid med askorbinsyre
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Thioglycolat buljong
<i>Actinomyces turicensis</i>	Schaedler buljong Oxoid med askorbinsyre
<i>Cutibacterium acnes</i>	Schaedler buljong Liofilchem med askorbinsyre

3.7 CCUG-stammer og subkultivasjon

For å forsikre at hurtigvoksende og lite krevende bakteriestammer også vokser i buljongene ble suspensjoner fra syv CCUG-stammer inokulert i de ulike buljongene. Seks av CCUG-stammene hadde vekst i alle buljongene innen 1 døgn. På motsatt side hadde *Haemophilus influenzae* ingen vekst i løpet av 7 døgn.

Som en kontroll på at bakteriene i buljongene var levedyktige ble det utført subkultivasjon på FAA-agar eller sjokolade- og blodagar. De seks CCUG-stammene som vokste i buljongene hadde rikelig vekst på sjokolade- og blodagar etter 1 døgn. De fleste av de 21 bakteriestammene som ble spredd på FAA-agarer hadde sparsom til rikelig vekst innen fem døgn. Unntakene var *Dialister microaerophilus*, som hadde ingen vekst ved subkultivering fra Thioglycolat buljong, og *Desulfovibrio species* som ikke hadde vekst fra Schaedler buljong Liofilchem med askorbinsyre.

3.8 Erstatningsalternativer

Schaedler buljongene Liofilchem og Oxoid uten askorbinsyre er ikke fordelaktig i forhold til dagens Thioglycolat buljong. 62% av bakteriestammene vokser dårligere i Schaedler buljongene uten askorbinsyre (figur 12).

Schaedler buljongene Liofilchem og Oxoid med askorbinsyre er like gode, eller i mange tilfeller bedre alternativer enn dagens Thioglycolat buljong. Buljongene er fordelaktige for dyrkning av de 21 anaerobe og kravfulle bakteriene benyttet i dette prosjektet. Av disse to buljongene med askorbinsyre er Schaedler buljong fra produsenten Liofilchem mest fordelaktig, da den hadde færre bakteriestammer med ingen vekst enn Schaedler buljong fra produsenten Oxoid.

4 Diskusjon

4.1 Evaluering av buljongene

Den preliminnære studien av La Scola et al. [2] viste at tilsetning av antioksidanter som askorbinsyre til original Schaedler base kan bidra til bedre kultivasjon av anaerobe bakterier. Studiegruppen klarte på denne måten å forbedre vekstvilkårene til flere obligat anaerobe bakterier. En lignende preliminær studie utført på Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi i 2019 viste at oppveksten av bakterier forekom tidligere og mer rikelig ved kultivasjon i Schaedler buljong tilsatt askorbinsyre, enn i Thioglycolat buljong. Funnene fra disse studiene støtter resultatene i dette prosjektet, som viser at Schaedler buljong tilsatt askorbinsyre stort sett gir like gode eller bedre kultivasjonsresultater enn Thioglycolat buljong.

Resultatene viser vesentlige forskjeller mellom graden av vekst i Schaedler buljongene med og uten tilsats av 1 mg/ml askorbinsyre. De 21 bakteriestammene vokste generelt dårligere i Schaedler buljongene uten askorbinsyre. Dette kan skyldes at den oksygenreducerende komponenten i Schaedler buljongene uten askorbinsyre, cysteine, ikke gir like optimale vekstvilkår som i Schaedler buljongene som inneholder både cysteine og askorbinsyre. Askorbinsyre fjerner O_2 i vekstmedier ved å redusere O_2 til H_2O , noe som gir et mer ideelt miljø for anaerobe bakterier å vokse i [13][17]. Ved sammenligning av veksten i Schaedler buljongene virker det som tilsats av askorbinsyre gir et bedre vekstmiljø enn i Schaedler buljongene uten askorbinsyre. Dette tyder på at askorbinsyre er en viktig tilsetning for optimal vekst av anaerobe og kravfulle bakterier. Schaedler buljongene uten askorbinsyre viser dårligere dyrkningsresultater enn dagens anbefalte Thioglycolat buljong, og er derfor ikke fordelaktig for dyrkning av anaerobe og kravfulle bakterier.

Schaedler buljongene med tilsats av 1 mg/ml askorbinsyre viser seg å være gode erstatningsalternativer for Thioglycolat buljong. Av de to ulike variantene av Schaedler buljong med askorbinsyre er buljongen fra produsenten Liofilchem mest fordelaktig. Årsaken til at den vurderes som bedre enn Schaedler buljong fra produsenten Oxoid er at den hadde færre bakteriestammer med ingen vekst etter 7 døgn (figur 10). Det at Schaedler buljong Oxoid gir dårligere kultivasjonsresultater enn Schaedler buljong Liofilchem kan skyldes variasjon i sammensetning av de dehydrerte kulturmediene som utgjør buljongene.

Innholdet i Fastidious Anaerobe Broth (Neogen), Schaedler Anaerobe Broth (Oxoid) og Schaedler Broth (Liofilchem) varierer (tabell 2). De 21 bakteriestammene benyttet i dette

prosjektet har ulike forutsetninger for vekst, og stiller forskjellige krav til næringsstoffer og vekstfaktorer for å kunne vokse. Varierende innhold av oksygenreduserende komponenter i de ulike buljongene kan ha spilt en rolle for hvor gode vekstvilkår hver enkelt buljong har. Schaedler buljongene tilsatt 1 mg/ml askorbinsyre viser bedre kultivasjonsresultater enn både Thioglycolat buljong og Schaedler buljongene uten tilsatt av askorbinsyre. Dette kan tyde på at askorbinsyre er den avgjørende faktoren for optimale vekstvilkår for anaerobe og kravfulle bakterier. Andre komponenter som kan ha hatt innvirkning på vekstforholdene er hemin og vitamin K. Schaedler Anaerobe Broth og Schaedler Broth inneholder en høyere konsentrasjon av hemin enn Fastidious Anaerobe Broth. Hemin er en komponent som kan bedre vekstvilkår for kravfulle bakterier [15], og det kan tenkes at en høyere konsentrasjon av denne komponenten vil stimulere til mer rikelig vekst. Fastidious Anaerobe Broth er det eneste dehydrerte kulturmediet som inneholder vitamin K, som er gunstig for anaerobe bakterier [15]. Denne komponenten kan ha spilt en rolle i at Thioglycolat buljong har bedre kultivasjonsresultater enn Schaedler buljongene uten askorbinsyre.

4.2 Klinisk relevante bakteriestammer

Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi ønsket at bakteriestammene *C. perfringens*, *B. fragilis*, *F.nucleatum*, *A. turicensis* og *C. acnes* skulle vektlegges. Dette på bakgrunn av at de ofte inngår i blandingsinfeksjoner, og dermed er hyppig forekommende i klinisk prøvemateriale.

Schaedler buljongene tilsatt askorbinsyre viser seg å være det beste alternativet for dyrkning av disse bakteriestammene. *Cutibacterium acnes* favoriserer buljongene med askorbinsyre fremfor dagens anaerob-buljong, Thioglycolat buljong. Likevel var dagens anaerob-buljong i flere tilfeller like god som Schaedler buljongene med askorbinsyre. Thioglycolat buljong vurderes derfor fortsatt som et godt dyrkningsmedium for de fem klinisk relevante bakteriestammene. Resultatene viser at veksten av *B.fragilis* var like god i referansebuljongen som i Schaedler buljongene med askorbinsyre. Dette kan skyldes at veksten av *Bacteroides*-arter stimuleres av vitamin K, som er tilsatt i Thioglycolat buljong sitt dehydrerte kulturmedium. I tillegg viser disse resultatene at bakterien favoriserer Schaedler buljong med askorbinsyre, framfor uten. *Actinomyces turicensis* vokste best i Schaedler buljong Oxoid med askorbinsyre, men nesten like godt i Schaedler buljong Liofilchem med askorbinsyre og i Thioglycolat buljong. For bakteriestammene *B.fragilis* og *Actinomyces turicensis* ser det ut til at thioglycolat er en like god oksygenreduserende komponent som askorbinsyre.

Fusobacterium nucleatum viser ulike dyrkningsresultater ved lav- og høy CFU/ml.

Bakteriestammen vokste best i Schaedler buljongene og dårligst i Thioglycolat buljongen ved høy konsentrasjon. Buljongene inokulert med lav konsentrasjon vokste i første omgang også dårligst i referansebuljongen, men på grunn av avvik i den daglige avlesningen av Thioglycolat buljong ble inokulering av denne repetert. I den repeterte buljongen ble derimot veksten vurdert som best. Forklaringen på hvorfor disse resultatene er såpass motstridende er usikker. Faktorer som kan ha spilt inn er inokulering, inkubering og utfordrende avlesning.

4.3 Bakteriestammer som opplevdes som spesielt krevende

Det er viktig å understreke at det ikke er en buljong som passer for alle de 21 bakteriestammene benyttet i dette prosjektet. Dette skyldes deres varierende behov for ulike næringsstoffer og vekstfaktorer. CCUG-stammen *Haemophilus influenzae* er et eksempel på en bakteriestamme som trenger spesifikke vekstfaktorer for å vokse. En betingelse for vekst av denne bakteriestammen er at X-faktor (hemin) og V-faktor (NAD(P)) er tilgjengelig i dyrkningsmediet [3]. Buljongene benyttet i dette prosjektet inneholder ikke V-faktor, og dermed vokste ikke *Haemophilus influenzae* i mediene.

Bakteriestammene *Prevotella nanciensis* og *Capnocytophaga sputigena* vokste ikke i noen av buljongene ved lav konsentrasjon (vedlegg 7). Buljongene inokulert med høy konsentrasjon av *Prevotella nanciensis* hadde vekst i løpet av 1-3 døgn, mens buljongene inokulert med høy konsentrasjon av *Capnocytophaga sputigena* vokste i løpet av 2-4 døgn (vedlegg 7). *Capnocytophaga sputigena* vokste ikke i Schaedler buljong Liofilchem uten askorbinsyre ved høy konsentrasjon. Disse to bakteriestammene viste seg å være krevende bakterier å dyrke ved lave konsentrasjoner. Schaedler buljongene vurderes likevel likt som Thioglycolat buljong, inokulert med lav bakteriekonsentrasjon, da det var ingen vekst i alle buljongene. Buljongene inokulert med høy konsentrasjon av *Prevotella nanciensis* vokste hurtigere i Schaedler buljongene uten askorbinsyre. Dette var ikke forventet siden *Prevotella nanciensis* er en obligat anaerob bakteriestamme, som i teorien ville nyttiggjort seg av vekstmiljøet i et dyrkningsmedium tilsatt askorbinsyre.

Av buljongene som ble inokulert med høy konsentrasjon av *Capnocytophaga sputigena* vokste bakterien hurtigst i Thioglycolat buljong og Schaedler buljongene med askorbinsyre. *Capnocytophaga sputigena* er en mikroaerofil bakterie (vedlegg 4) som vil si at den benytter seg av lave O₂ konsentrasjoner. Dette funnet kan indikere at det var oksygen tilstede i Schaedler buljongene med askorbinsyre. Resultatene fra disse to bakteriestammene viser at Schaedler buljong med askorbinsyre ikke er spesielt fordelaktig for alle typer bakteriestammer.

4.4 Generelle feilkilder og begrensninger

Ved visuell avlesning av vekst i buljonger vil faren for feilkilder alltid være tilstede. Resultatene i dette prosjektet baserer seg på menneskelig avlesning og subjektive vurderinger. Dette kan ha spilt en rolle for de endelige resultatene. Det var derfor viktig å standardisere avlesningen slik at veksten ble vurdert mest mulig likt. Standardisering av avlesning, gode rutiner og lik framgangsmåte har vært med på å minske feilkilder i dette prosjektet. Visuell avlesning av vekst i buljonger var en ny erfaring, og det var derfor vanskelig å vurdere veksten i begynnelsen av prosjektet. Avlesningen ble lettere og mer standardisert etterhvert.

Hvordan veksten så ut og utformet seg i buljongene var varierende for de ulike bakteriestammene. Noen av stammene blakket nesten hele buljongen, mens andre vokste som klumper, dråper eller streker. Uavhengig av hvordan veksten så ut kunne den bli gradert som 5, om den var rikelig nok. Siden veksten var så ulik fra bakteriestamme til bakteriestamme, var det viktig at graderingen av vekst kun ble sammenlignet innad i samme bakteriestamme. Ved å vurdere veksten på denne måten viser resultatene hvilken buljong som var mest egnet for hver enkelt bakteriestamme. Utseende til veksten kunne også variere innad i hver enkelt bakteriestamme. Noen bakteriestammer vokste på ulik måte i de fem buljongene, som gjorde det vanskelig å vurdere graden av vekst i forhold til hverandre. Det ble flere ganger observert at veksten i Thioglycolat buljong var mer diffus og uklar enn veksten i Schaedler buljongene. Diffus vekst opplevdes som mer krevende å vurdere. Thioglycolat buljong kan ut ifra dette vurderes som en mindre egnet buljong for avlesning av vekst.

4.5 Konklusjon

Resultatene fra dette prosjektet indikerer at Schaedler buljong tilsatt askorbinsyre er et bedre dyrkningsalternativ for anaerobe og kravfulle bakterier enn Thioglycolat buljong. Undersøkelsene som er utført på de 21 bakteriestammene viser at de i de fleste tilfeller vokste tidligere og mer rikelig i Schaedler buljong med askorbinsyre. Overgang til Schaedler buljong med askorbinsyre kan effektivisere det diagnostiske arbeidet slik at anaerobe bakterier lettere kan kultiveres og dermed identifiseres tidligst mulig, noe som er til stor fordel for pasienten.

For å sikre at resultatene i dette prosjektet ikke gir feil indikasjon på hvilken type buljong som bør benyttes for dyrkning av anaerobe og kravfulle bakterier kan flere inokuleringer i de fem ulike buljongene av de 21 bakterieisolatene gjennomføres. En bredere undersøkelse med oppsett av flere stammer og paralleller kan også være

hensiktsmessig. Undersøkelser av et utvidet antall bakteriestammer kan gi en bedre oversikt over kvaliteten på Schaedler buljongene.

Som en del av videre arbeid skal Schaedler buljongene med askorbinsyre, som ga best vekstvilkår for anaerobe og kravfulle bakterier, benyttes til dyrkning av klinisk prøvemateriale. Buljongene skal inokuleres med både usterilt og sterilt prøvemateriale der ulike lokasjoner og materialer skal være representert. Av usterilt prøvemateriale skal perianalabcess, abdominale- og urogenitale prøver dyrkes, samt prøver tatt fra hud, bløtvev, hals og munnhule. Sterilt prøvemateriale fra vev og proteserelaterte infeksjoner bør også være representert. Videre arbeid skal utføres av fagansvarlig bioingeniør for anaerob dyrkning på Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi på St. Olavs hospital.

5 Referanser

1. Tønjum T og Bøvre K. anaerob. I: *Store medisinske leksikon*. 2020. URL: <http://sml.snl.no/anaerob> (sjekket 15. apr. 2021).
2. La Scola B, Khelaifia S, Lagier JC og Raoult D. Aerobic culture of anaerobic bacteria using antioxidants: a preliminary report. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2014;33:1781–3.
3. Degré M, Hovig B og Rollag H. *Medisinsk mikrobiologi*. 3. utg. Oslo: Gyldendal, 2010.
4. Nagy E, Boyanova L og Justesen U. How to isolate, identify and determine antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in routine laboratories. *Clinical Microbiology and Infection* 2018;24:1139–48.
5. Boisrenoult P. Cutibacterium acnes prosthetic joint infection: Diagnosis and treatment. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research*. 2017 Instructional Course Lectures (SoFCOT) 2018;104:S19–S24.
6. Madigan M, Martinko J, Bender K, Buckley D og Stahl D. *Brock Biology of Microorganisms*. 14. utg. Essex: Pearson Education Limited, 2015.
7. Lagier JC, Edouard S, Pagnier I, Mediannikov O, Drancourt M og Raoult D. Current and Past Strategies for Bacterial Culture in Clinical Microbiology. *Clinical Microbiology Reviews* 2015;28:208–36.
8. Loesche WJ. Oxygen sensitivity of various anaerobic bacteria. *Applied Microbiology* 1969;18:723–7.
9. Murray PR, Rosenthal KS og Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 9. utg. 2020.
10. Jurtshuk P. Bacterial Metabolism. I: *Medical Microbiology*. Red. av Baron S. 4th. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7919/> (sjekket 7. mai 2021).
11. Harvey RA og Ferrier DR. *Lippincott's illustrated reviews: Biochemistry*. 5th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health, 2011. 520 s.
12. Hatti-Kaul R, Mamo G og Mattiasson B, red. *Anaerobes in Biotechnology*. Bd. 156. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Cham: Springer International Publishing, 2016. DOI: 10.1007/978-3-319-45651-5. URL: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-45651-5> (sjekket 14. mai 2021).
13. Eddy BP og Ingram M. Interactions between ascorbic acid and bacteria. *Bacteriological Reviews* 1953;17:93–107.

14. Oxoid - Product Detail. URL: http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0497&c=UK&lang=EN&org=&print=N (sjekket 20. apr. 2021).
15. Gibbons RJ og Macdonald JB. HEMIN AND VITAMIN K COMPOUNDS AS REQUIRED FACTORS FOR THE CULTIVATION OF CERTAIN STRAINS OF BACTEROIDES MELANINOGENICUS1. *Journal of Bacteriology* 1960;80:164–70.
16. Ditlefsen A og Svihus B. antioksidanter. I: *Store norske leksikon*. 2020. URL: <http://snl.no/antioksidanter> (sjekket 9. mai 2021).
17. Egeland ES. askorbinsyre – E300. I: *Store norske leksikon*. 2021. URL: http://snl.no/askorbinsyre.-_E300 (sjekket 9. mai 2021).
18. Croxatto A, Prod'hom G og Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiology Reviews* 2012;36:380–407.

6 Vedlegg

Vedlegg 1: Pakningsvedlegg til Fastidious Anaerobe Broth



Search ...

Fastidious Anaerobe Broth (F.A.B.)

Fastidious Anaerobe Broth is used for the growth fastidious anaerobes and is not intended for use in the diagnosis of disease or other conditions in humans.

F.A.B. was developed by Neogen (formerly Lab M), working in conjunction with the microbiology department of a University of Manchester teaching hospital. The medium was designed to give optimum growth of fastidious anaerobes and has found applications as a blood culture medium and an enrichment broth for the isolation of anaerobes. The medium is very rich in nutrients from the specially selected peptone mixture. Vitamin K, hemin and L-cysteine are all growth factors required by some anaerobes. L-cysteine together with sodium thioglycolate reduce the Eh of the medium and the agar content inhibits absorption of oxygen and convection currents. Resazurin is a redox indicator. Several published evaluations show F.A.B. to be the liquid medium of choice for fastidious anaerobes.

Formula	Liter
Peptone Mixture	15.0 g/L
Yeast Extract	10.0 g/L
Sodium Thioglycollate	0.5 g/L
Sodium Chloride	2.5 g/L
Agar	0.75 g/L
L-Cysteine HCl	0.5 g/L
Resazurin	0.001 g/L
Sodium Bicarbonate	0.4 g/L
Hemin	0.005 g/L
Vitamin K	0.0005 g/L

Final pH: 7.2 ± 0.2 at 25°C

Formula may be adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

Preparation

1. Dissolve 29.7 grams of the medium in one liter of purified water.
2. Heat with frequent agitation to completely dissolve the medium. Boil to dissolve the agar and dispense into screw capped containers. Autoclave at 121°C for 15 minutes. Tighten the caps as soon as possible after autoclaving.

Product was previously known as LabM Product: LAB071 Fastidious Anaerobe Broth (FAB)

Order Details

Product #	Product Description
-----------	---------------------

<https://foodsafety.neogen.com/en/ncm-fastidious-anaerobe-broth> 27.08.2019 (NCM) Fastidious Anaerobe Broth (F.A.B.) Page 2 of 2

NCM0199A	Fastidious Anaerobe Broth (F.A.B.), 500 g
NCM0199B	Fastidious Anaerobe Broth (F.A.B.), 5 kg
NCM0199C	Fastidious Anaerobe Broth (F.A.B.), 10 kg
NCM0199D	Fastidious Anaerobe Broth (F.A.B.), 25 kg (European only size)
NCM0199E	Fastidious Anaerobe Broth (F.A.B.), 50 kg (US only size)

Reference Material

LAB071 - Fastidious Anaerobe Broth, Safety Data Sheet [Danish] [Dutch] [English] [EU English] [Finnish] [French] [German] [Hungarian] [Italian] [Spanish, Mexico] [Swedish]
NCM0199 - Fastidious Anaerobe Broth, Technical Specifications Sheet [English]

For additional information or questions about product SDS documents, please contact Neogen at SDS@neogen.com.

Please check with your local representative for availability of these products within your region.

Neogen Food Safety

620 Leshar Place • Lansing, MI 48912 USA
800/234-5333 (USA) • 517/372-9200
Fax: 517/372-2006
foodsafety@neogen.com

© NEOGEN CORPORATION

Vedlegg 2: Pakningsvedlegg til Schaedler Anaerobe Broth

Dehydrated Culture Media



SCHAEDLER ANAEROBE BROTH

Code: CM0497

A broth version of Schaedler Anaerobe Agar CM0437 for the general growth of anaerobes and for use in blood cultures and antibiotic MIC studies of these organisms.

Typical Formula*	gm/litre
Tryptone Soya Broth (Oxoid CM129)	10.0
Special peptone	5.0
Yeast extract	5.0
Glucose	5.0
Cysteine HCl	0.4
Haemin	0.01
Tris Buffer	0.75
pH 7.6 ± 0.2 @ 25°C	

* Adjusted as required to meet performance standards

Directions

Add 26.5g to 1 litre of distilled water and mix to dissolve completely. Dispense into final containers and sterilise by autoclaving at 121°C for 15 minutes.

Description

Schaedler Anaerobe Broth is a clear medium which can support the growth of those anaerobic bacteria commonly associated with human and veterinary disease. It is identical to the formula of Schaedler Anaerobe Agar CM0437, except that the agar has been omitted.

Used as a fluid medium, under the appropriate atmosphere, Schaedler Anaerobe Broth showed enhanced growth with a number of demanding anaerobic organisms when compared with seven other commonly used broth media¹.

Schaedler Anaerobe Broth can also be used to determine antibiotic MIC levels of anaerobic organisms. The extreme variations in growth rates usually prevent the existing linear regression plots of MIC versus zone diameter being used. The use of tube methods overcomes this problem¹.

Fass, Prior and Rotilie² described a simple tube method that does not require special atmospheres or special equipment to carry out the test. By adding a 6mm solid glass bead to the tube of broth prior to autoclaving, growth of most organisms could be detected after incubation for one day, by slowly rotating the tube and observing the swirl of organisms. The addition of 0.0001 of w/v resazurin to the medium was used to determine whether oxidation had occurred in stored media. For anaerobic cocci, heat-inactivated horse serum was added to a final concentration of 1% v/v before use³.

The addition of menadione (0.1 g/litre), sodium polyanethol-sulphonate (SPS, 0.3 g/litre) and carbon dioxide (3% v/v) to Schaedler Broth enables it to be used as a blood culture medium and for the cultivation of especially fastidious *Bacteroides* species.

Storage conditions and Shelf life

Store the dehydrated medium at 10-30°C and use before the expiry date on the label.
Store prepared broth in the dark at <15°C.

Appearance

Dehydrated medium: Straw coloured, free-flowing powder
Prepared medium: Straw coloured solution

Quality control

Positive controls:

Clostridium perfringens ATCC® 13124

Expected Results

Turbid growth

<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC® 25285*	Turbid growth
<i>Prevotella loescheii</i> ATCC® 15930 (with menadione addition)	Turbid growth
Negative control:	
Uninoculated	No change

* This organism is available as a Culti-loop®

Precautions

As with all anaerobic broth media, it is important to avoid chemo-oxidation (overheating) and photo-oxidation (storage in the light) because such oxidative effects cause the inhibition of growth.

References

1. Stalons D. R., Thornsberry C. and Dowel V. R. (1974) *Appl. Microbiol.* 27. 1098-1104.
2. Fass R. J., Prior R. B. and Rotlie C. A. (1975) *Antimicrob. Agents Chemother.* 8. 444-452.
3. Rotlie C. A., Fass R. J., Prior R. B. and Perkins R. L. (1975) *Antimicrob. Agents Chemother.* 7. 311-315.

©2001 - 2019 Oxoid Limited, All rights reserved.
 Copyright, Disclaimer and Privacy Policy | Conditions of Sale | About Us | Cookies
 Thermo Fisher Scientific Inc.

Vedlegg 3: Pakningsvedlegg til Schaedler Broth



Dehydrated culture medium
Rev. 0 - 3rd Ed. 2004
Page 1 of 1

SCHAEDLER BROTH

Basal medium for aerobic and anaerobic bacteria isolation.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Tryptic Soy Broth	10.0 ✓
Tryptone	5.0 ✓
Yeast Extract	5.0 ✓
Glucose	5.0 ✓
Hemin	0.01 ✓
L-Cystine	0.4 ✓

Final pH = 7.6 ± 0.2 at 25 °C.

DIRECTIONS

Suspend 25.4 g of powder in 1 liter of distilled or deionized water. Heat to boiling until completely dissolved. Dispense into final containers. Sterilize in the autoclave at 121 °C for 15 minutes.

DESCRIPTION

SCHAEDLER BROTH is a nonselective medium used for fastidious aerobic and anaerobic bacteria, such as lactobacilli, streptococci, clostridia and *Bacteroides*. The medium is highly nutritious due to its content of peptones, glucose and yeast extract. Hemin supplies the X factor required by many fastidious microorganisms.

TECHNIQUE

Cool the medium at 25°C. If the medium is not used immediately after its preparation, it must be regenerated at 100°C for 20 minutes in order to restore conditions of anaerobiosis. Do not repeat this operation more than once. Inoculate the material to examine into the tube using a sterile bent glass rod. Incubate at 36±1°C for 18-48 hours in aero/anaerobic conditions required by the species being studied.

QUALITY CONTROL

Dehydrated medium

Appearance: free-flowing, homogeneous.

Color: light tan.

Prepared medium

Appearance: clear to slightly opalescent, may have a slight precipitate.

Color: light to medium amber.

Incubation conditions: 36 ± 1 °C for 18-48 hours.

Microorganism	ATCC	Growth
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	good
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	good
<i>Escherichia coli</i>	25922	good
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	good

PERFORMANCE AND LIMITATIONS

Since the nutritional requirements of organisms are different, some strains may be encountered that fail to grow or grow poorly on this medium.

STORAGE

The powder is very hygroscopic: store the powder at 10-30 °C, in a dry environment, in its original container tightly closed and use it before the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident.

Store prepared tubes at 2-8 °C.

REFERENCES

- MacFaddin, J.D. (1985). Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, p. 695-699, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Schaedler, R.W., R. Dubos, and R. Costello. (1965). The development of bacterial flora in the gastrointestinal tract of mice. J. Exp. Med. 122: 59.

PRESENTATION

Product	REF	Σ
SCHAEDLER BROTH (19.6 l)	610137	500 g
SCHAEDLER BROTH (3.9 l)	620137	100 g

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	Caution, consult accompanying documents	Manufacturer	Contains sufficient for <n> tests	IVD In Vitro Diagnostic Medical Device
REF Catalogue number	Fragile, handle with care	Use by	Temperature limitation	Keep away from heat source



LIOFILCHEM s.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto D.A. (TE) - ITALY

Phone +390858930745 Fax +390858930330

Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



IVD

Vedlegg 4: De 21 bakterieisolatene benyttet i dette prosjektet

Tabell 7: Bakterieisolater og deres metabolisme med tilhørende prøvenummer sortert i stigende rekkefølge.

Prøvenummer	Bakterieisolat	Metabolisme
1	<i>Clostridium perfringens</i>	Obligat anaerob
2	<i>Bacteroides fragilis</i>	Obligat anaerob
3	<i>Prevotella nanceiensis</i>	Obligat anaerob
4	<i>Prevotella buccalis</i>	Obligat anaerob
5	<i>Butyricimonas spp.</i>	Obligat anaerob
6	<i>Dialister micraerophilus</i>	Mikroaerofil
7	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Fakultativt anaerob
8	<i>Actinotignum schaalii</i>	Fakultativt anaerob
9	<i>Eggerthella lenta</i>	Obligat anaerob
10	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Obligat anaerob
11	<i>Bifidobacterium spp.</i>	Obligat anaerob
12	<i>Actinomyces turicensis</i>	Fakultativt anaerob
13	<i>Campylobacter urealyticus</i>	Obligat anaerob
14	<i>Capnocytophaga sputigena</i>	Mikroaerofil og fakultativt anaerob
15	<i>Clostridium hathewayi</i>	Obligat anaerob
16	<i>Clostridium ramosum</i>	Obligat anaerob
17	<i>Cutibacterium acnes</i>	Aerotolerant anaerob
18	<i>Desulfovibrio spp.</i>	Aerotolerant anaerob
19	<i>Fingoldia magna</i>	Obligat anaerob
20	<i>Parvimonas micra</i>	Obligat anaerob
21	<i>Bilophila wadsworthia</i>	Obligat anaerob

Vedlegg 5: De syv CCUG-stammene benyttet i dette prosjektet

Tabell 8: CCUG-stammene og deres metabolisme med tilhørende prøvenummer sortert i stigende rekkefølge.

Prøvenummer	Bakterieisolat	Metabolisme
CCUG1	<i>Escherichia coli</i>	Fakultativt anaerob
CCUG2	<i>Staphylococcus aureus</i>	Fakultativt anaerob
CCUG3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Fakultativt anaerob
CCUG4	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Aerotolerant
CCUG5	<i>Streptococcus anginosus</i>	Fakultativt anaerob
CCUG6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Obligat aerob
CCUG7	<i>Haemophilus influenzae</i>	Fakultativt anaerob

Vedlegg 6: Eksempel på gradering av vekst i buljonger og vurdering av oppvekst på agar

Tabell 9: Et eksempel på utformingen til avlesningsskjemaene i prosjektet. De øverste avlesningsskjemaene viser graderingen av veksten til *Finegoldia magna* ved høy (10^8 CFU/ml) og lav (10^3 CFU/ml) konsentrasjon i de fem buljongene. Vekst gradert fra 2-5 er markert grønne, som vil si at de skal subkultiveres. Buljonger som er gradert 1 er markert gule og må inkuberes videre, mens ingen vekst er markert rød. De nederste avlesningsskjemaene viser oppveksten av bakteriestammene på FAA-agarer.

(19) *Finegoldia magna*

Avlesningsskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10^3

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021
		10^3	10^3	10^3	10^3
Schaelderbuljong Liofilchem	07.04.2021	iv	v (1)	v (2)	
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	v (1)	v (2)
Schaelderbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	v (1)	v (2)	
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	v (1)	v (3)	
Thioglycolat buljong	07.04.2021	iv	v (1)	v (2)	

Fortynning 10^8

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021
		10^8
Schaelderbuljong Liofilchem	07.04.2021	v (3)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	v (3)
Schaelderbuljong Oxoid	07.04.2021	v (3)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	v (3)
Thioglycolat buljong	07.04.2021	v (3)

Avlesningsskjema utsåing fra buljong

Fortynning 10^3

Buljongtype	Agarer	Utsådd dato	11.04.2021	12.04.2021	13.04.2021	14.04.2021
Schaelderbuljong Liofilchem	FAA	10.04.2021	iv	iv	iv	RV
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	FAA	11.04.2021		iv	Slør	RV
Schaelderbuljong Oxoid	FAA	10.04.2021	iv	iv	RV	
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	FAA	10.04.2021	iv	iv	RV	
Thioglycolat buljong	FAA	10.04.2021	iv	iv	Slør	RV

Fortynning 10^8

Buljongtype	Agarer	Utsådd dato	09.04.2021	10.04.21	11.04.21
Schaelderbuljong Liofilchem	FAA	08.04.2021	iv	Slør	RV
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	FAA	08.04.2021	iv	Slør	RV
Schaelderbuljong Oxoid	FAA	08.04.2021	iv	Slør	RV
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	FAA	08.04.2021	iv	Slør	RV
Thioglycolat buljong	FAA	08.04.2021	iv	RV	

Vedlegg 7: Oversikt over vekst etter antall døgn

Tabell 10: Den øverste tabellen viser en oversikt over når veksten til de ulike bakteriestammene oppstod etter antall døgn ved en konsentrasjon på 10^3 CFU/ml. Den nederste tabellen viser en oversikt over når veksten til de ulike bakteriestammene oppstod etter antall døgn ved en konsentrasjon på 10^8 CFU/ml. Vekst etter 1 døgn er markert grønn, vekst etter 2-7 døgn er markert gul og ingen vekst er markert rødt.

Vekst etter 1 døgn
Vekst etter 2-7 døgn
Ingen vekst

Bakteriestamme	Thioglycolat buljong	Schaedler buljong Liofilchem	Schaedler buljong Liofilchem m askorbinsyre	Schaedler buljong Oxoid	Schaedler buljong Oxoid m askorbinsyre
<i>Clostridium perfringens</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Bacteriodes fragilis</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Prevotella nanciensis</i>	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst
<i>Prevotella buccalis</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Butyrificimonas spp.</i>	vekst etter 2 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Dialister microaerophilus</i>	vekst etter 2 døgn	ingen vekst	vekst etter 3 døgn	ingen vekst	ingen vekst
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Actinotignum schaalii</i>	vekst etter 3 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 4 døgn	vekst etter 3 døgn
<i>Eggerthella lenta</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	vekst etter 2 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 3 døgn
<i>Bifidobacterium spp.</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Actinomyces turicensis</i>	vekst etter 2 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 2 døgn
<i>Campylobacter urealyticus</i>	vekst etter 4 døgn	vekst etter 5 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 7 døgn	vekst etter 3 døgn
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst
<i>Clostridium hatheway</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	ingen vekst	vekst etter 2 døgn
<i>Clostridium ramosum</i>	vekst etter 4 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn	ingen vekst	ingen vekst
<i>Cutibacterium acnes</i>	vekst etter 4 døgn	vekst etter 7 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 4 døgn	vekst etter 3 døgn
<i>Desulfovibrio species</i>	vekst etter 2 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 2 døgn
<i>Finegoldia magna</i>	vekst etter 2 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 3 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 2 døgn
<i>Parvimonas micra</i>	vekst etter 3 døgn	vekst etter 5 døgn	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst
<i>Bilophila wadsworthia</i>	ingen vekst	ingen vekst	vekst etter 4 døgn	vekst etter 6 døgn	vekst etter 2 døgn

Bakteriestamme	Thioglycolat buljong	Schaedler buljong Liofilchem	Schaedler buljong Liofilchem m askorbinsyre	Schaedler buljong Oxoid	Schaedler buljong Oxoid m askorbinsyre
<i>Clostridium perfringens</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Bacteriodes fragilis</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Prevotella nanciensis</i>	vekst etter 3 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn
<i>Prevotella buccalis</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Butyrificimonas spp.</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Dialister microaerophilus</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Actinotignum schaalii</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Eggerthella lenta</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	vekst etter 2 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Bifidobacterium spp.</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Actinomyces turicensis</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Campylobacter urealyticus</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	vekst etter 1 døgn	ingen vekst	vekst etter 1 døgn	vekst etter 4 døgn	vekst etter 3 døgn
<i>Clostridium hatheway</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Clostridium ramosum</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Cutibacterium acnes</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Desulfovibrio species</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Finegoldia magna</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn
<i>Parvimonas micra</i>	vekst etter 1 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 5 døgn	vekst etter 2 døgn	vekst etter 7 døgn
<i>Bilophila wadsworthia</i>	ingen vekst	ingen vekst	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn	vekst etter 1 døgn

Vedlegg 8: Rangering av buljongene

Tabell 11: Den øverste tabellen viser hvordan buljongene er rangert for hver bakteriestamme ved en konsentrasjon på 10³ CFU/ml, og den nederste tabellen viser for en konsentrasjon på 10⁸ CFU/ml. Buljongene er rangert fra I-V etter når veksten oppstod og graden av vekst, hvor I er best og V er dårligst. Dårligere rangering av Schaedler buljongene sammenlignet med Thioglycolat buljong er markert røde, mens bedre eller like god rangering er markert grønne.

Dårligere rangering enn Thioglycolat buljong
Bedre eller like god rangering som Thioglycolat buljong

Bakteriestamme	Thioglycolat buljong	Schaedler buljong Liofilchem	Schaedler buljong Liofilchem m askorbinsyre	Schaedler buljong Oxoid	Schaedler buljong Oxoid m askorbinsyre
<i>Clostridium perfringens</i>	V	III	II	IV	I
<i>Bacteriodes fragilis</i>	I	III	I	II	I
<i>Prevotella nanciensis</i>	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst
<i>Prevotella buccalis</i>	II	IV	I	III	I
<i>Butyricimonas spp.</i>	III	IV	I	V	II
<i>Dialister microaerophilus</i>	I	ingen vekst	II	ingen vekst	ingen vekst
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	II	III	I	II	I
<i>Actinotignum schaalii</i>	II	III	I	IV	II
<i>Eggerthella lenta</i>	I	III	I	II	I
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	I	II	II	III	III
<i>Bifidobacterium spp.</i>	I	II	IV	III	II
<i>Actinomyces turicensis</i>	II	V	III	IV	I
<i>Campylobacter urealyticus</i>	III	II	I	IV	I
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst
<i>Clostridium hatheway</i>	II	I	II	ingen vekst	III
<i>Clostridium ramosum</i>	III	I	II	ingen vekst	ingen vekst
<i>Cutibacterium acnes</i>	IV	V	I	III	II
<i>Desulfovibrio species</i>	II	III	I	I	II
<i>Finegoldia magna</i>	II	II	III	II	I
<i>Parvimonas micra</i>	I	II	ingen vekst	ingen vekst	ingen vekst
<i>Bilophila wadsworthia</i>	ingen vekst	ingen vekst	II	III	I

Bakteriestamme	Thioglycolat buljong	Schaedler buljong Liofilchem	Schaedler buljong Liofilchem m askorbinsyre	Schaedler buljong Oxoid	Schaedler buljong Oxoid m askorbinsyre
<i>Clostridium perfringens</i>	II	III	I	II	I
<i>Bacteriodes fragilis</i>	I	II	I	II	I
<i>Prevotella nanciensis</i>	V	I	IV	II	III
<i>Prevotella buccalis</i>	II	II	I	III	I
<i>Butyricimonas spp.</i>	II	III	I	II	I
<i>Dialister microaerophilus</i>	I	II	III	I	III
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	II	I	I	I	I
<i>Actinotignum schaalii</i>	II	III	I	II	II
<i>Eggerthella lenta</i>	II	III	I	II	I
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	III	II	II	II	I
<i>Bifidobacterium spp.</i>	II	II	I	I	I
<i>Actinomyces turicensis</i>	II	II	I	II	I
<i>Campylobacter urealyticus</i>	III	IV	III	III	I
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	II	ingen vekst	I	IV	III
<i>Clostridium hatheway</i>	II	II	I	III	I
<i>Clostridium ramosum</i>	II	I	I	II	I
<i>Cutibacterium acnes</i>	IV	IV	II	III	I
<i>Desulfovibrio species</i>	I	I	I	I	I
<i>Finegoldia magna</i>	I	I	I	I	I
<i>Parvimonas micra</i>	I	III	IV	II	V
<i>Bilophila wadsworthia</i>	ingen vekst	ingen vekst	III	II	I

Vedlegg 9: Rådata

De 28 tabellene i rådata viser en oversikt over avlesningsskjemaene med gradering av vekst til de 21 anaerobe og kravfulle bakteriene, samt de syv CCUG-stammene. Vekst gradert fra 2-5 er markert grønn. Vekst som er gradert som 1 er markert gul, mens ingen vekst er markert rød.

(1) Clostridium perfringens

Avlesningsskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	17.03.2021
		10 ³
Schaelderbuljong Liofilchem	16.03.2021	v (3)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	16.03.2021	v (4)
Schaelderbuljong Oxoid	16.03.2021	v (2)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	16.03.2021	v (5)
Thioglycolat buljong	16.03.2021	v (1)

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	17.03.2021
		10 ⁸
Schaelderbuljong Liofilchem	16.03.2021	v (3)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	16.03.2021	v (5)
Schaelderbuljong Oxoid	16.03.2021	v (4)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	16.03.2021	v (5)
Thioglycolat buljong	16.03.2021	v (4)

(2) Bacteroides fragilis

Avlesningskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	17.03.2021	18.03.2021
		10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	16.03.2021	iv	v (2)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	16.03.2021	v (1)	v (4)
Schaedlerbuljong Oxoid	16.03.2021	iv	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	16.03.2021	v (1)	v (4)
Thioglycolat buljong	16.03.2021	v (1)	v (4)

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	17.03.2021
		10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	16.03.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	16.03.2021	v (4)
Schaedlerbuljong Oxoid	16.03.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	16.03.2021	v (4)
Thioglycolat buljong	16.03.2021	v (4)

(3) Prevotella nanciensis

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	20.04.2021	21.04.2021	22.04.2021	23.04.2021	24.04.2021	25.05.2021	26.05.2021
		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	19.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	19.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid	19.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	19.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Thioglycolat buljong	19.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato:	20.04.2021	21.04.2021	22.04.2021	23.04.2021
		10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	19.04.2021	v (1)	v (3)		
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	19.04.2021	iv	v (1)	v (1)	v (2)
Schaedlerbuljong Oxoid	19.04.2021	v (1)	v (2)		
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	19.04.2021	iv	v (2)		
Thioglycolat buljong	19.04.2021	iv	iv	v (1)	v (3)

(4) Prevotella buccalis

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021	24.03.2021	25.03.2021
		10 ³	10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	22.03.2021	iv	v (1)	v (3)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (1)	v (4)	
Schaedlerbuljong Oxoid	22.03.2021	iv	v (1)	v (4)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (1)	v (4)	
Thioglycolat buljong	22.03.2021	v (1)	v (3)	

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato:	23.03.2021
		10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	22.03.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid	22.03.2021	v (2)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (5)
Thioglycolat buljong	22.03.2021	v (3)

(5) *Butyrificimonas* spp.

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021	24.03.2021	25.03.2021
		10 ³	10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	22.03.2021	iv	v (1)	v (3)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (1)	v (2)	
Schaedlerbuljong Oxoid	22.03.2021	iv	iv	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (1)	v (1)	v (4)
Thioglycolat buljong	22.03.2021	iv	v (1)	v (4)

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato:	23.03.2021
		10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	22.03.2021	v (2)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (4)
Schaedlerbuljong Oxoid	22.03.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (4)
Thioglycolat buljong	22.03.2021	v (3)

(6) *Dialister microaerophilus*

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	20.04.2021	21.04.2021	22.04.2021	23.04.2021	24.04.2021	25.04.2021	26.04.2021
		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	19.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	19.04.2021	iv	iv	v (1)	v (1)	v (1)	v (1)	v (1)
Schaedlerbuljong Oxoid	19.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	19.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Anaerob buljong	19.04.2021	iv	v (1)	v (3)				

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	13.04.2021
		10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	12.04.2021	v (4)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	12.04.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid	12.04.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	12.04.2021	v (3)
Thioglycolat buljong	12.04.2021	v (5)

(7) Lactobacillus rhamnosus

Avlesningskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021	24.03.2021
		10 ³	10 ³
Schaelderbuljong Liofilchem	22.03.2021	v (1)	v (3)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (3)	
Schaelderbuljong Oxoid	22.03.2021	v (2)	
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (3)	
Thioglycolat buljong	22.03.2021	v (2)	

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021
		10 ⁸
Schaelderbuljong Liofilchem	22.03.2021	v (4)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (4)
Schaelderbuljong Oxoid	22.03.2021	v (4)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (4)
Thioglycolat buljong	22.03.2021	v (3)

(8) Actinotignum schaalii

Avlesningskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021	24.03.2021	25.03.2021	26.03.2021
		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaelderbuljong Liofilchem	22.03.2021	iv	iv	v (1)	v (2)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	iv	v (1)	v (2)	
Schaelderbuljong Oxoid	22.03.2021	iv	iv	iv	v (2)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	iv	iv	v (2)	
Thioglycolat buljong	22.03.2021	iv	iv	v (2)	

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021	24.03.2021
		10 ⁸	10 ⁸
Schaelderbuljong Liofilchem	22.03.2021	v (1)	v (2 - 3)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (3)	
Schaelderbuljong Oxoid	22.03.2021	v (2)	
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (2)	
Thioglycolat buljong	22.03.2021	v (2)	

(9) Eggerthella lenta

Avlesningskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021	24.03.2021
		10 ³	10 ³
Schaelderbuljong Liofilchem	22.03.2021	iv	v (2)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (2)	
Schaelderbuljong Oxoid	22.03.2021	v (1)	v (3)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (2)	
Thioglycolat buljong	22.03.2021	v (2)	

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021
		10 ⁸
Schaelderbuljong Liofilchem	22.03.2021	v (3)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (5)
Schaelderbuljong Oxoid	22.03.2021	v (4)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (5)
Thioglycolat buljong	22.03.2021	v (4)

(10) Fusobacterium nucleatum

Avlesningsskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021	24.03.2021	25.03.2021	26.03.2021	27.03.2021	01.04.2021
		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaelderbuljong Liofilchem	22.03.2021	iv	iv	v (3)			
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	iv	iv	v (3)			
Schaelderbuljong Oxoid	22.03.2021	iv	iv	v (2)			
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	iv	iv	v (2)			
Thioglycolat buljong	22.03.2021	iv	iv	iv	v (1)	v (1)	v (4)

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.04.2021	24.04.2021	25.04.2021
		10 ³	10 ³	10 ³
Schaelderbuljong Liofilchem				
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre				
Schaelderbuljong Oxoid				
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre				
Anaerob buljong	22.04.2021	iv	v (1)	v (4)

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021	24.03.2021	25.03.2021
		10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸
Schaelderbuljong Liofilchem	22.03.2021	v (2)		
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (2)		
Schaelderbuljong Oxoid	22.03.2021	v (2)		
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (3)		
Thioglycolat buljong	22.03.2021	iv	v (1)	v (3)

(11) Bifidobac spp.

Avlesningsskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021	24.03.2021	25.03.2021	26.03.2021
		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaelderbuljong Liofilchem	22.03.2021	iv	v (2)		v (2)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	iv	iv	v (1)	v (2)
Schaelderbuljong Oxoid	22.03.2021	iv	v (1)	v (3)	v (3)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (1)	v (2-3)		
Thioglycolat buljong	22.03.2021	v (1)	v (3)		

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021
		10 ⁸
Schaelderbuljong Liofilchem	22.03.2021	v (3)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (4)
Schaelderbuljong Oxoid	22.03.2021	v (4)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (4)
Thioglycolat buljong	22.03.2021	v (3)

(12) Actinomyces turicensis

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021	24.03.2021	25.03.2021	26.03.2021
		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	22.03.2021	iv	iv	v (1)	v (2)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	iv	iv	v (3)	
Schaedlerbuljong Oxoid	22.03.2021	iv	iv	v (1)	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	iv	v (1)	v (4)	
Thioglycolat buljong	22.03.2021	iv	v (1)	v (3)	

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	23.03.2021
		10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	22.03.2021	v (2)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	22.03.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid	22.03.2021	v (2)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	22.03.2021	v (3)
Thioglycolat buljong	22.03.2021	v (2)

(13) Campylobacter urealyticus

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021	12.04.2021	13.04.2021	14.04.2021	15.04.2021
		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	v (1)	v (2)		
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	v (1)	v (1)	v (2)			
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	v (1)	v (1)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	v (1)	v (1)	v (2)			
Thioglycolat buljong	07.04.2021	iv	iv	iv	v (1)	v (1)	v (1)	v (2)	

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021	12.04.2021	13.04.2021	14.04.2021
		10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	iv	v (1)	v (1)	v (1)	v (1)	v (1)	v (2)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	v (2)						
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	v (1)	v (1)	v (1)	v (1)	v (1)	v (1)	v (2)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	v (3)						
Thioglycolat buljong	07.04.2021	v (1)	v (1)	v (1)	v (1)	v (1)	v (1)	v (2)

(14) Capnocytophaga sputigena

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021	12.04.2021	13.04.2021	14.04.2021
		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Thioglycolat buljong	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021	12.04.2021	13.04.2021	14.04.2021
		10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	v (2)					
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	iv	iv	v (2)			
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	v (2)				
Thioglycolat buljong	07.04.2021	iv	v (1)	v (1)	v (2)			

(15) Clostridium hatheway

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021	12.04.2021	13.04.2021	14.04.2021
		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	v (2)						
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	v (1)	v (3)					
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	v (3)					
Thioglycolat buljong	07.04.2021	v (1)	v (3)					

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	20.04.2021	21.04.2021	22.04.2021	23.04.2021	24.04.2021	25.04.2021	26.04.2021
		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem								
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre								
Schaedlerbuljong Oxoid	19.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre								
Thioglycolat buljong								

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021
		10 ⁸	10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	v (4)	
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	v (5)	
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	v (5)	
Thioglycolat buljong	07.04.2021	v (4)	

(16) Clostridium ramosum

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021	12.04.2021	13.04.2021	14.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	v (1)	v (2)					
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	v (1)	v (1)	v (2)			
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Thioglycolat buljong	07.04.2021	iv	iv	iv	v (1)	v (2)		

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	v (3)
Thioglycolat buljong	07.04.2021	v (5)

(17) Cutibacterium acnes

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021	12.04.2021	13.04.2021	14.04.2021	15.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	v (1)	v (1)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	v (3)					
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	iv	iv	v (1)	v (3)			
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	v (2)					
Thioglycolat buljong	07.04.2021	iv	iv	iv	v (1)	v (2)			

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	v (2)
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	v (4)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	v (3)
Thioglycolat buljong	07.04.2021	v (5)

(18) Desulfovibrio species**Avlesningsskjema Schaedlerbuljong****Fortynning 10³**

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021	12.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	iv	iv	v (1)	v (3)	
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	v (1)	v (1)	v (2)	
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	v (1)	v (1)	v (2)	
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	v (1)	v (1)	v (1)	v (3)
Thioglycolat buljong	07.04.2021	iv	v (1)	v (1)	v (1)	v (3)

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	v (3)
Thioglycolat buljong	07.04.2021	v (3)

(19) Finegoldia magna**Avlesningsskjema Schaedlerbuljong****Fortynning 10³**

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	iv	v (1)	v (2)	
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	v (1)	v (2)
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	v (1)	v (2)	
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	v (1)	v (3)	
Thioglycolat buljong	07.04.2021	iv	v (1)	v (2)	

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	v (3)
Thioglycolat buljong	07.04.2021	v (3)

(20) Parvimonas micra

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021	12.04.2021	13.04.2021	14.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	v (1)	v (3)	
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Thioglycolat buljong	07.04.2021	iv	iv	v (1)	v (3)			

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	08.04.2021	09.04.2021	10.04.2021	11.04.2021	12.04.2021	13.04.2021	14.04.2021	15.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	07.04.2021	iv	v (1)	v (1)	v (1)	v (3)			
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	v (1)	v (2)		
Schaedlerbuljong Oxoid	07.04.2021	iv	v (2)						
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	07.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	v (1)	v (1)
Thioglycolat buljong	07.04.2021	v (4)							

(21) Bilophila wadsworthia

Avlesningsskjema Schaedlerbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	14.04.2021	15.04.2021	16.04.2021	17.04.2021	18.04.2021	19.04.2021	20.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	13.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	13.04.2021	iv	iv	iv	v (1)	v (2-3)		
Schaedlerbuljong Oxoid	13.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	v (2-3)	
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	13.04.2021	iv	v (1)	v (1)	v (1)	v (2-3)		
Thioglycolat buljong	13.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	14.04.2021	15.04.2021	16.04.2021	17.04.2021	18.04.2021	19.04.2021	20.04.2021
Schaedlerbuljong Liofilchem	13.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	13.04.2021	v (1)	v (2)					
Schaedlerbuljong Oxoid	13.04.2021	v (3)						
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	13.04.2021	v (4)						
Thioglycolat buljong	13.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv

CCUG 1: Escherichia coli

Avlesningskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	18.03.2021
		10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	17.03.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	17.03.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid	17.03.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	17.03.2021	v (5)
Thioglycolat buljong	17.03.2021	v (5)

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	18.03.2021
		10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	17.03.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	17.03.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid	17.03.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	17.03.2021	v (5)
Thioglycolat buljong	17.03.2021	v (5)

CCUG 2: Staphylococcus aureus

Avlesningsskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	18.03.2021
		10 ³
Schaelderbuljong Liofilchem	17.03.2021	v (3)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	17.03.2021	v (4)
Schaelderbuljong Oxoid	17.03.2021	v (4)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	17.03.2021	v (3)
Thioglycolat buljong	17.03.2021	v (2)

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	18.03.2021
		10 ⁸
Schaelderbuljong Liofilchem	17.03.2021	v (4)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	17.03.2021	v (5)
Schaelderbuljong Oxoid	17.03.2021	v (5)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	17.03.2021	v (5)
Thioglycolat buljong	17.03.2021	v (4)

CCUG 3: Staphylococcus epidermidis

Avlesningskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	21.04.2021
		10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	20.04.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	20.04.2021	v (4)
Schaedlerbuljong Oxoid	20.04.2021	v (4)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	20.04.2021	v (3)
Thioglycolat buljong	20.04.2021	v (2)

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	18.03.2021
		10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	17.03.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	17.03.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid	17.03.2021	v (4)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	17.03.2021	v (4)
Thioglycolat buljong	17.03.2021	v (3)

CCUG 4: Streptococcus pyogenes

Avlesningskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	13.04.2021	14.04.2021
		10 ³	10 ³
Schaelderbuljong Liofilchem	12.04.2021	v (2)	
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	12.04.2021	v (2)	
Schaelderbuljong Oxoid	12.04.2021	v (2)	
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	12.04.2021	v (1)	v (2)
Thioglycolat buljong	12.04.2021	v (3)	

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	13.04.2021
		10 ⁸
Schaelderbuljong Liofilchem	12.04.2021	v (5)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	12.04.2021	v (5)
Schaelderbuljong Oxoid	12.04.2021	v (5)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	12.04.2021	v (4)
Thioglycolat buljong	12.04.2021	v (5)

CCUG 5: Streptococcus anginosus

Avlesningsskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	13.04.2021
		10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	12.04.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	12.04.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid	12.04.2021	v (3)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	12.04.2021	v (4)
Thioglycolat buljong	12.04.2021	v (3)

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	13.04.2021
		10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	12.04.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	12.04.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid	12.04.2021	v (5)
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	12.04.2021	v (5)
Thioglycolat buljong	12.04.2021	v (5)

CCUG 6: Pseudomonas aeruginosa

Avlesningsskjema Schaelderbuljong

Fortynning 10³

Buljongtype	Inokulasjon dato	13.04.2021	14.04.2021
		10 ³	10 ³
Schaelderbuljong Liofilchem	12.04.2021	v (3)	
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	12.04.2021	v (3)	
Schaelderbuljong Oxoid	12.04.2021	v (4)	
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	12.04.2021	v (1)	v (3)
Thioglycolat buljong	12.04.2021	v (3)	

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	13.04.2021
		10 ⁸
Schaelderbuljong Liofilchem	12.04.2021	v (4)
Schaelderbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	12.04.2021	v (4)
Schaelderbuljong Oxoid	12.04.2021	v (4)
Schaelderbuljong Oxoid m/askorbinsyre	12.04.2021	v (4)
Thioglycolat buljong	12.04.2021	v (4)

CCUG 7: Haemophilus influenzae**Avlesningsskjema Schaedlerbuljong****Fortynning 10³**

Buljongtype	Inokulasjon dato	13.04.2021	14.04.2021	15.04.2021	16.04.2021	17.04.2021	18.04.2021	19.04.2021
		10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
Schaedlerbuljong Liofilchem	12.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	12.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid	12.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	12.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Thioglycolat buljong	12.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv

Fortynning 10⁸

Buljongtype	Inokulasjon dato	13.04.2021	14.04.2021	15.04.2021	16.04.2021	17.04.2021	18.04.2021	19.04.2021
		10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸
Schaedlerbuljong Liofilchem	12.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Liofilchem m/askorbinsyre	12.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid	12.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Schaedlerbuljong Oxoid m/askorbinsyre	12.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv
Thioglycolat buljong	12.04.2021	iv	iv	iv	iv	iv	iv	iv