



BBL Selenite-F Broth



L007497 • Wersja 12 • październik 2015

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI (Opcjonalnie)

I WPROWADZENIE

Selenite-F Broth jest wzbogaconym podłożem przeznaczonym do izolacji *Salmonella* i pewnych gatunków z rodzaju *Shigella*.

II PROCEDURA KONTROLI DZIAŁANIA

1. Zaszczepić podłoża reprezentatywnymi próbkami wymienionych szczepów.
 - a. Korzystając ze sterylnych pipet o objętości 1,0 mL, wykonać posiewy 1,0 mL rozcieńczeniami 10^2 – 10^3 CFU/mL 18- do 24-h hodowli *Salmonella* Typhimurium oraz *Shigella sonnei* z użyciem bulionu **Trypticase Soy Broth**.
 - b. W każdej z próbek wykonać posiewy zgodnie z powyższym opisem, dodając 1,0 mL 18- do 24-h hodowli *Escherichia coli* na podłożu TSB w rozcieńczeniu 10^2 – 10^3 CFU/mL. Probówka z bulionem Selenite-F Broth bez posiewu służy do wykonywania hodowli pochodnej i inkubacji jako kontrola wzrostu.
 - c. Wywirować dokładnie wszystkie próbki.
2. Inkubować próbki z poluzowanymi nakrętkami w środowisku tlenowym, w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Po zakończeniu inkubacji wywirować próbki i wykonać posiewy ze wszystkich próbek na płytkach do izolacji z agarem MacConkey II Agar za pomocą ezy.
3. Inkubować płytki z podłożem MacConkey II Agar w temperaturze $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ przez 18 do 24 h w warunkach tlenowych. Sprawdzić wzrost organizmów laktozo-dodatnich (różowych kolonii) oraz laktozo-ujemnych (bezbarnych kolonii) na płytkach MacConkey II.
4. Oczekiwane wyniki
Drobnoustroje kontrolne CLSI (szczepy ATCC)

Uzyskiwanie na MacConkey II Agar

* <i>Salmonella enterica</i> podg. <i>enterica</i> serotyp Typhimurium (14028)	Dobry lub bardzo dobry wzrost bezbarwnych kolonii
* <i>Shigella sonnei</i> (9290)	Dobry lub bardzo dobry wzrost bezbarwnych kolonii
* <i>Escherichia coli</i> (25922)	Wzrost zahamowany częściowo lub całkowicie (różowych kolonii)

UWAGA: kontrola wzrostu wskazuje brak wzrostu na podłożu MacConkey II Agar.

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

1. Ocenic próbki według opisu w dziale „Pogorszenie jakości produktu”.
2. Wzrokowo ocenić reprezentatywne próbki, aby upewnić się, że żadne istniejące wady fizyczne nie będą przeszkadzały w ich użytkowaniu.
3. Określić potencjometryczną wartość pH w temperaturze pokojowej, aby upewnić się, że odczyn jest zgodny ze specyfikacją i wynosi $7,0 \pm 0,2$.
4. Inkubować reprezentatywne próbki bez wysianych drobnoustrojów w temperaturze od 20 do 25°C i od 30 do 35°C; ocenić po 7 dniach pod względem zanieczyszczenia drobnoustrojami.

INFORMACJE O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

Bulion Selenite-F Broth jest podłożem wzbogaconym, służącym do izolacji bakterii *Salmonella* z kału, moczu, wody, żywności i innych materiałów istotnych ze względów higienicznych.

V STRESZCZENIE I WYJAŚNIENIA

Bulion Selenite-F Broth został opracowany przez Leifsona,¹ który wykazał, że selen jest czynnikiem hamującym wzrost pałeczek jelitowych oraz pewnych innych drobnoustrojów obecnych w próbkach kału, takich jak paciorkowce kałowe, i w związku z tym jest przydatny w wykrywaniu bakterii gatunku *Salmonella*. Wykrył, że hamowane szczepy ostatecznie i tak wzrastały, ale w przypadku gdy hodowle

pochodne wykonywane były na wzbogaconym bulionie po 8 do 12 h inkubacji, istniała możliwość izolacji samych *Salmonella* bez towarzyszącemu im wzrostu wielu innych składników flory jelitowej.

Podłoża wzbogacone są rutynowo wykorzystywane w celu wykrywania patogenów w próbkach kału, ponieważ patogeny te stanowią zwykle jedynie mały odsetek flory jelitowej. Bulion Selenite-F Broth i pokrewne podłoże Selenite Cystine Broth zalecane są do stosowania w wykrywaniu rodzaju *Salmonella* z hodowlami pochodnymi wykonywanymi po inkubacji trwającej 12 do 18 h. Bulion GN Broth jest odpowiednim podłożem wzbogacającym do wykrywania gatunku *Shigella*.² Podłoże Campylobacter Thioglycollate Medium with 5 Antimicrobics zalecane jest do stosowania dla próbek podejrzanych o obecność gatunku *Campylobacter jejuni* w przypadku, gdy oczekuje się niewielkich ilości drobnoustrojów wskutek przedłużonego transportu do laboratorium lub po ustąpieniu ostrego okresu choroby.³

VI ZASADY PROCEDURY

Pepton kazeinowy dostarcza istotnych składników azotowych oraz węglowych. Laktoza w podłożu ma za zadanie utrzymanie stabilnego pH. W wyniku redukcji selenu przez bakterie powstają zasady, a wskutek wzrostu pH może dojść do zmniejszenia toksyczności selenu i ostatecznie spowodować nadmierny wzrost bakterii zanieczyszczających. Kwas produkowany w wyniku fermentacji laktozy służy do utrzymania neutralnego lub nieznacznie obniżonego pH. Działanie fosforanu jest dwukierunkowe. Fosforan pozwala na stabilizację pH i zmniejsza też toksyczność selenu, zwiększając w ten sposób zdolność hamującą podłoża. Selenit sodu hamuje wiele gatunków Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych, w tym paciorkowców kałowych oraz pałeczek jelitowych.

VII ODCZYNNIKI

Selenite-F Broth

Przybliżony skład* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Trzustkowy hydrolizat kazeiny	5,0	g
Laktoza	4,0	g
Selenit sodu	4,0	g
Fosforan sodu	10,0	g

*Skorygowano i (lub) uzupełniono zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów działania.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

Próbki z ciasno dopasowanymi zatyczkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

W próbkach pochodzenia klinicznego mogą być obecne drobnoustroje chorobotwórcze, w tym wirusy zapalenia wątroby i wirus ludzkiego niedoboru odporności (HIV). Podczas pracy z materiałami skażonymi krwią i innymi płynami ustrojowymi należy przestrzegać „Standardowych środków ostrożności”⁴⁻⁷ oraz wytycznych obowiązujących w danej placówce. Używane gotowe próbki, pojemniki na próbki oraz inne materiały skażone należy przed wyrzuceniem poddać sterylizacji w autoklawie.

Instrukcja przechowywania

Otrzymane próbki umieścić i przechowywać w ciemnym miejscu, w temperaturze 2–8°C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać dopiero bezpośrednio przed użyciem. Do minimum ograniczać kontakt ze światłem. W pożywkach przechowywanych do momentu użycia w próbkach, zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

Pogorszenie jakości produktu

Nie używać próbek, jeżeli są widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, zmiana zabarwienia, wysychanie lub inne, świadczące o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Dostępne są różne techniki postępowania z próbkami umożliwiającymi uzyskanie hodowli. Bardziej szczegółowych informacji dostarcza odpowiednia literatura.^{8,9} Probki należy uzyskać przed zastosowaniem antybiotyku. Należy jak najszybciej dostarczyć próbki do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały

Selenite-F Broth

Materiały wymagane, ale niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki, szczepy do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Procedura testowa

Stosować techniki aseptyczne.

W przypadku materiału kałowego i innych materiałów stałych należy zawiesić 1 lub 2 gramy próbki w bulionie (ok. 10 do 15% objętości) i w razie potrzeby zemulgować za pomocą igły do posiewów.

Probówki należy inkubować z poluzowanymi zatyczkami w temperaturze $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ do 24 h. Hodowlę pochodne należy wykonać w miarę możliwości po 12 do 18 h od inkubacji. Przy inkubacji trwającej dłużej niż 24h wzrost pałeczek jelitowych zwykle jest intensywniejszy niż patogenów.

Kontrola jakości przez użytkownika

Zobacz „Procedury kontroli jakości”.

Każda partia podłoża została przetestowana przy użyciu odpowiednich drobnoustrojów do kontroli jakości. Ten rodzaj testowania jest zgodny ze specyfikacją produktu i standardami CLSI, jeśli mają zastosowanie. Jak zwykle, testy należy wykonać zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, stanowych, federalnych lub krajowych, wymogami akredytacji i/lub rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium.

Aby określić pH podłoża próbki metodą potencjometryczną, należy wykorzystać pojedynczą elektrodę o odpowiednio niewielkich rozmiarach dopasowanych do probówek. Końcówka elektrody powinna się znajdować poniżej powierzchni bulionu.

X WYNIKI

Po inkubacji powinno się obserwować wzrost liczby patogenów, które rosną wybiórczo i są wzbogacane przez podłoże. Należy wykonać hodowlę pochodne na stosowne podłoża wybiórcze i różnicujące (np. MacConkey Agar, Hektoen Enteric Agar, XLD Agar, XLT4 Agar i **CHROMagar** Salmonella), aby dokonać izolacji patogenów w celu ich identyfikacji.

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Nie należy używać bulionów wzbogacających jako jedynych podłoży do izolacji. Podłoża tych należy używać w połączeniu z podłożami wybiórczymi i niewybiórczymi, tak aby zwiększyć prawdopodobieństwo izolacji patogenów, szczególnie wtedy, gdy są one obecne w małych ilościach. Do identyfikacji niezbędne są czyste kultury drobnoustrojów. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne i/lub serologiczne. W celu uzyskania szczegółowych informacji oraz zalecanych procedur należy zapoznać się z odpowiednią literaturą.⁸⁻¹⁰

XII CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

W badaniu przeprowadzonych przez Kelly'ego i wsp. laboratorium otrzymało 8 717 próbek kału do wykonania posiewu. Probki były wysiewane bezpośrednio na podłoża XLD Agar oraz bulion wzbogacony w selen (Selenite). Po 12–18 h wykonywano hodowlę pochodną z bulionu Selenite na podłożu XLD Agar. Gatunek *Salmonella enterica* zidentyfikowano w 312 (3,6%) próbkach kału, z czego 197 (63%) pochodziło od przypadków uprzednio rozpoznanych, natomiast 115 (37%) od przypadków nowo zidentyfikowanych. Spośród 115 nowych izolatów *S. enterica* 68 uzyskano zarówno z pierwotnego posiewu na agarze XLD oraz z posiewu na bulionie Selenite. Jednakże tylko 47 z nich (41%) rosnęło na podłożu wzbogacającym Selenite.

XIII ASORTYMENT

Nr kat.	Opis
---------	------

221020	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL – opakowanie zaw. 10 probówek rozmiaru K
--------	--

221021	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL – opakowanie zaw. 100 probówek rozmiaru K
--------	---

XIV Piśmiennictwo

1. Leifson, E. 1936. New selenite selective enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid *Salmonella* bacilli. Am. J. Hyg. 24:423-432.
2. Taylor, W.I., and B. Harris. 1965. Isolation of Shigellae, II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Pathol. 44:476-479.
3. Nachamkin, I. 1999. *Campylobacter* and *Arcobacter*, p. 716-726. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
5. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
6. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
8. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
11. Kelly, S., M. Cormican, L. Parke, G. Corbett-Feeney, and J. Flynn. 1999. Cost-effective methods for isolation of *Salmonella enterica* in the clinical laboratory. J. Clin. Microbiol. 37: 3369.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD