



POSTUPY PRI KONTROLE KVALITY (Opcionalno)

I ÚVOD

Seleničitanový bujón Selenite-F je obohacujúce médium určené na izoláciu baktérie *Salmonella* a niektorých druhov baktérie *Shigella*.

II REALIZÁCIA TESTU

1. Reprezentatívne vzorky naočkujte kultúrami uvedenými nižšie.
 - a. Pomocou sterilných jednorazových 1,0 mL pipiet naočkujte skúmavky s 1,0 mL 18- až 24-hodinového sójového bujónu **Trypticase** kultúr *Salmonella* Typhimurium a *Shigella sonnei* zriedených tak, aby obsahovali 10^2 – 10^3 CFU/mL.
 - b. Do každej takto naočkovanej skúmavky pridajte 1,0 mL 18- až 24-hodinovej kultúry *Escherichia coli* z TSB zriedenej tak, aby obsahovala 10^2 – 10^3 CFU/mL. Pri subkultivácii a inkubácii sa na kontrolu rastu využíva nenačkovaná skúmavka s bujónom Selenite-F.
 - c. Všetkými skúmavkami dôkladne zavírite.
2. Všetky skúmavky inkubujte s pootvorenými uzávermi pri teplote $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ v aeróbnom prostredí po dobu 18–24 hod. Po inkubácii skúmavkami zavírite a agarové dosky MacConkey II zaočkujte jednou kľučkou z každej skúmavky.
3. Inkubujte pôdu MacConkey II Agar pri teplote $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ po dobu 18–24 hod. v aeróbnom prostredí. V miskách s agarom MacConkey II kontrolujte rast laktóza-pozitívnych (ružové kolónie) a laktóza-negatívnych (bezfarebné kolónie) organizmov.
4. Očakávané výsledky

Testovacie organizmy CLSI (kmene ATCC)

Obnova na pôde MacConkey II Agar

**Salmonella enterica*,
poddruh *enterica*,
sérotyp Typhimurium
(14028)

Priemerný až silný rast bezfarebných kolónií

**Shigella sonnei* (9290)

Priemerný až silný rast bezfarebných kolónií

**Escherichia coli* (25922)

Čiastočná až úplná inhibícia (ružové kolónie)

POZNÁMKA. Kontrola rastu na pôde MacConkey II Agar nevykazuje žiaden rast.

*Kmeň odporúčaný na kontrolu kvality používateľom.

III DODATOČNÁ KONTROLA KVALITY

1. Skontrolujte skúmavky podľa popisu v časti Znehodnotený produkt.
2. Vizualne skontrolujte niekoľko skúmaviek, aby ste zistili prípadné poškodenie, ktoré by bránilo ich použitiu.
3. Pri izbovej teplote stanovte pomocou potenciometra hodnotu pH, aby boli zachované hodnoty $7,0 \pm 0,2$ špecifické pre daný produkt.
4. Inkubujte niekoľko nenačkovaných skúmaviek pri teplote 20 až 25 °C a 30 až 35 °C. Po 7 dňoch skontrolujte mikrobiálnu kontamináciu.

INFORMÁCIE O PRODUKTE

IV POUŽITIE

Bujón Selenite-F je obohacujúce médium využívané na izoláciu baktérie *Salmonella* zo stolice, moču, vody, jedla a iných hygienicky významných materiálov.

V ZHRNUTIE A VYSVETLENIE

Využívanie bujónu Selenite-F odporúča Leifson,¹ ktorý dokázal inhibičný účinok seleničitanu na koliformné baktérie a niektoré ďalšie mikrobiálne druhy, napríklad fekálne streptokoky prítomné vo vzorkách stolice, a možnosť jeho využitia pri množení druhu *Salmonella*. Zistil, že inhibované kmene

môžu nečakane rásť, v prípade subkultúr získaných z obohacujúceho bujónu po 8 až 12 hodinách inkubácie však bola izolácia baktérie *Salmonella* možná bez rozsiahleho rastu viacerých predstaviteľov črevnej flóry.

Obohacujúce médiá sa bežne využívajú na zisťovanie patogénov vo vzorkách stolice, pretože patogény obvykle predstavujú iba malú časť črevnej flóry. Seleničitanový bujón Selenite-F a podobnú živnú pôdu, seleničitan-cystínový bujón Selenite Cystine, je vhodné použiť na obnovenie rastu baktérie *Salmonella* na subkultúrach získaných 12- až 18-hodinovou inkubáciou. Pri zisťovaní prítomnosti baktérie *Shigella* je vhodným obohacujúcim médiom bujón GN.² V prípade vzoriek, u ktorých sa predpokladá výskyt baktérie *Campylobacter jejuni*, pričom sa očakáva malé množstvo organizmov v dôsledku dlhotrvajúcej prepravy do laboratória alebo v dôsledku odobratia vzorky po ukončení akútneho stavu ochorenia, je vhodné využiť pôdu *Campylobacter Thioglycollate Medium with 5 Antimicrobics*.³

VI PRINCÍPY POSTUPU

Základné zlúčeniny dusíka a uhlíka zabezpečuje kazeínový peptón. Laktóza v pôde udržiava stálu hodnotu pH. Redukciou seleničitanu v dôsledku rastu baktérií sa vytvára zásada a príslušné zvýšenie hodnoty pH oslabí toxicitu seleničitanu, čím sa maximálne zvýši rast cudzích baktérií. Kyselina vytvorená fermentáciou laktózy slúži na udržanie neutrálnej alebo mierne zníženej hodnoty pH. Fosfát plní dvojnásobnú funkciu – slúži na udržanie stabilnej hodnoty pH a oslabuje toxicitu seleničitanu, čím zvyšuje účinnosť média. Seleničitan sodný inhibuje veľa druhov gram-pozitívnych a gram-negatívnych baktérií vrátane enterokokov a koliformných baktérií.

VII ZLOŽENIE

Bujón Selenite-F

Približné zloženie* na liter purifikovanej vody

Pankreatický kazeínový hydrolyzát	5,0	g
Laktóza	4,0	g
Seleničitan sodný	4,0	g
Fosforečnan sodný	10,0	g

*Upravené a/alebo doplnené podľa potreby tak, aby boli dosiahnuté požadované analytické parametre.

Varovania a upozornenia

Len na diagnostické použitie *in vitro*.

Uzavreté skúmavky otvárajte opatrne, aby ste ich nerozbili a nezranili sa úlomkami skla.

V klinických vzorkách sa môžu vyskytovať patogénne mikroorganizmy vrátane vírusov hepatitídy a vírusu HIV. Pri práci so všetkými materiálmi kontaminovanými krvou a inými telesnými tekutinami dodržujte štandardné pracovné postupy⁴⁻⁷ a smernice príslušných inštitúcií. Pred likvidáciou sterilizujte všetky použité skúmavky, nádoby so vzorkami a iný kontaminovaný materiál autoklávom.

Pokyny na uskladnenie

Dodané skúmavky skladujte na tmavom mieste pri teplote 2–8 °C. Nezmrazujte ani nevystavujte nadmernej teplote. Otvorte až pred použitím. Chráňte pred svetlom. Pôdy v skúmavkách skladovaných podľa pokynov a otvorených až tesne pred použitím je možné očkovať až do dátumu použiteľnosti a inkubovať počas odporúčaného času inkubácie. Pred inkubáciou pôdu nechajte zohriať na laboratórnu teplotu.

Znehodnotený produkt

Skúmavky nepoužívajte, ak nesú známky mikrobiálnej kontaminácie, zmeny farby, vysušenia alebo iné znaky poškodenia.

VIII ODBER VZORIEK A MANIPULÁCIA S NIMI

Vzorky vhodné na kultivovanie sa môžu odoberať rôznymi spôsobmi. Podrobnejšie informácie nájdete v príslušnej literatúre.^{8,9} Vzorky by sa mali odberať ešte pred začiatkom liečby bakteriostatikami. Je potrebné zabezpečiť rýchlu prepravu vzoriek do laboratória.

IX POSTUP

Dodávaný materiál

Bujón Selenite-F

Potrebný materiál, ktorý nie je súčasťou dodávky

Prídavné kultivačné médiá, činidlá, organizmy určené na kontrolu kvality a potrebné laboratórne vybavenie.

Postup pri teste

Dodržiavajte postupy aseptické práce.

Rozpusťte v bujóne 1 alebo 2 g vzorky stolice alebo iných tuhých materiálov (približne 10 až 15 % objemu). V prípade potreby emulgujte pomocou očkovej ihly.

Inkubujte skúmavky s uvoľneným uzáverom 24 hodín pri teplote $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Po 12 až 18 hodinách inkubácie by sa mali vytvoriť prípadné subkultúry. Pri dlhšej ako 24-hodinovej inkubácii majú koliformné baktérie tendenciu prerastať patogénne mikroorganizmy.

Kontrola kvality používateľom

Informácie nájdete v časti Postupy pri kontrole kvality.

Svaka serija podloga ispitana je koristeći odgovarajuće organizme za kontrolu kvaliteta i ta ispitivanja zadovoljavaju specifikaciju proizvoda i CLSI standarde, gde je to bitno. Kao i uvek, ispitivanje kontrole kvaliteta treba da se obavi u skladu sa važećim lokalnim, državnim, saveznim ili nacionalnim propisima, zahtevima za akreditaciju i/ili standardnim postupcima kontrole kvaliteta vaše laboratorije.

Na potenciometričké stanovenie pH pôdy v skúmavkách sa použije jediná elektróda, ktorá musí byť dostatočne malá, aby vošla do skúmavky. Hrot elektródy sa musí umiestniť pod povrch bujónovej kultúry.

X VÝSLEDKY

Po ukončení inkubácie by sa mal zvýšiť počet tých patogénnych organizmov, na ktoré je zameraný selektívny a obohacujúci účinok média. Subkultiváciou na príslušnej selektívnej a diferenciacnej pôde (napr. agarové pôdy MacConkey, Hektoen Enteric, XLD, XLT4 a **CHROMagar** Salmonella) izolujte patogény pre potreby ďalšej identifikácie.

XI OBMEDZENIA POSTUPU

Obohacujúce bujóny by sa nemali využívať ako samostatné izolačné pôdy. Bujóny je potrebné využívať v spojení so selektívnymi a neselektívnymi pôdami, ktoré zvyšujú pravdepodobnosť izolácie patogénov, predovšetkým v prípade ich obmedzeného počtu vo vzorke. Na identifikáciu organizmov je potrebné využiť čistou kultúru. Konečná identifikácia si vyžaduje ďalšie morfológické, biochemické a/alebo sérologické testy. Podrobnejšie informácie a odporúčané postupy nájdete v príslušnej literatúre.⁸⁻¹⁰

XII VLASTNOSTI TESTU

Kelly a kol.¹¹ v rámci svojej štúdie kultivovali v laboratóriu 8 717 vzoriek stolice. Vzorky boli naočkované priamo na agar XLD a na obohacujúci bujón na báze seleničitanu. Po 12 až 18 hodinách použili agar XLD na subkultiváciu seleničitanového bujónu. V 312 (3,6 %) vzorkách stolice bola identifikovaná baktéria *Salmonella enterica*, pričom 197 (63 %) vzoriek pochádzalo z už diagnostikovaných prípadov a 115 (37 %) vzoriek predstavovalo novoidentifikované prípady. Zo 115 nových izolátov baktérie *S. enterica* bolo 68 získaných zo základnej pôdy XLD a seleničitanového bujónu. V 47 (41 %) prípadoch rast organizmov nastal až po obohatení seleničitanom.

XIII DOSTUPNOSŤ

Kat. č. **Opis**

221020 **BD BBL** Selenite-F Broth, 8 mL balenie 10 skúmaviek veľkosti K

221021 **BD BBL** Selenite-F Broth, 8 mL balenie 100 skúmaviek veľkosti K

XIV POUŽITÁ LITERATÚRA

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.

Technický servis BD Diagnostics: obráťte sa na miestneho zástupcu spoločnosti BD alebo 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