BBL Selenite-F Broth

L007497 • Αναθ. 12 • Οκτώβριος 2015

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ(Προαιρετικό)

I ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το Selenite-F Broth είναι ένα υλικό εμπλουτισμού για την απομόνωση των ειδών *Salmonella* και μερικών ειδών *Shigella*.

II ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

1. Ενοφθαλμίστε αντιπροσωπευτικά δείγματα με τις καλλιέργειες που παρατίθενται παρακάτω.
   á Με χρήση αποστειρωμένων αναλώσιμων πιπετών 1,0 mL, ενοφθαλμίστε σωληνάρια με 1,0 mL καλλιεργειών διάρκειας 18 έως 24 ωρών των *Salmonella* Typhimurium και *Shigella sonnei* σε ζωμό σόγιας **Trypticase**, που έχουν αραιωθεί για να περιέχουν 10^2–10^3 CFU/mL.
   β. Σε καθένα από τα σωληνάρια που ενοφθαλμίστηκαν παραπάνω, προσθέστε 1,0 mL μιας καλλιέργειας διάρκειας 18 έως 24 ωρών της *Escherichia coli* σε TSB που έχει αραιωθεί για να περιέχει 10^2–10^3 CFU/mL. Στην ανακαλλιέργεια και την επώαση συμπεριλαμβάνεται ως μάρτυρας ανάπτυξης ένα μη ενοφθαλμισμένο σωληνάριο του Selenite-F Broth.
   ã. Υποβάλετε σε περιδίνηση καλά όλα τα σωληνάρια.
2. Επωάστε τα σωληνάρια με ξεσφιγμένα καπάκια στους 35 ± 2 °C, σε αερόβια ατμόσφαιρα για 18 έως 24 ώρες. Μετά την επώαση, υποβάλετε σε περιδίνηση και επιστρώστε γραμμωτά τρυβλία MacConkey II Agar με ένα γεμάτο κρίκο από καθένα από τα σωληνάρια.
3. Επωάστε τα γραμμωτά τρυβλία MacConkey II Agar στους 35 ± 2 °C για 18 έως 24 ώρες σε αερόβια ατμόσφαιρα. Εξετάστε τα τρυβλία του MacConkey II Agar για το βαθμό ανάπτυξης των θετικών στη λακτόζη (ροζ αποικίες) και των αρνητικών στη λακτόζη (άχρωμες αποικίες) μικροοργανισμών.
4. Αναμενόμενα αποτελέσματα

   Μικροοργανισμοί ελέγχου της CLSI (στελέχη ATCC)

	Ανάκτηση σε MacConkey II Agar
**Salmonella enterica* subsp. *enterica* ορότυπος Typhimurium (14028)	Μέτρια έως έντονη ανάπτυξη άχρωμων αποικιών
**Shigella sonnei* (9290)	Μέτρια έως έντονη ανάπτυξη άχρωμων αποικιών
**Escherichia coli* (25922)	Μερική έως πλήρης αναστολή (ροζ αποικίες)

   ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ο μάρτυρας ανάπτυξης δεν δείχνει ανάπτυξη στο MacConkey II Agar.

   *Συνιστώμενο στέλεχος μικροοργανισμού για ποιοτικό έλεγχο χρήστη.

III ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

1. Εξετάστε τα σωληνάρια όπως περιγράφεται στην ενότητα “Αλλοίωση του προϊόντος”.
2. Εξετάστε αντιπροσωπευτικά σωληνάρια οπτικώς για να βεβαιωθείτε ότι τυχόν υπάρχοντα φυσικά ελαττώματα δε θα επηρεάσουν δυσμενώς κατά τη χρήση.
3. Προσδιορίστε το pH ποτενσιομετρικά σε θερμοκρασία δωματίου για την τήρηση της προδιαγραφής των 7,0 ± 0,2.
4. Επωάστε μη ενοφθαλμισμένα αντιπροσωπευτικά σωληνάρια στους 20 έως 25 °C και στους 30 έως 35 °C και εξετάστε μετά από 7 ημέρες για τυχόν μικροβιακή μόλυνση.

ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

IV ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Το Selenite-F Broth χρησιμοποιείται ως υλικό καλλιέργειας εμπλουτισμού για την απομόνωση των ειδών *Salmonella* από κόπρανα, ούρα, νερό, τρόφιμα και άλλα υλικά υγειονομικής σημασίας.

V ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Το Selenite-F Broth επινοήθηκε από τον Leifson,[1] ο οποίος κατέδειξε ότι το σεληνιώδες ήταν ανασταλτικό για τα κολοβακτηριδιόμορφα και ορισμένα άλλα είδη μικροβίων, όπως οι στρεπτόκοκκοι των κοπράνων που υπάρχουν σε δείγματα κοπράνων, και έτσι, ήταν επωφελές στην ανάκτηση των ειδών *Salmonella*. Διαπίστωσε ότι τα ανασταλμένα στελέχη θα παρουσίαζαν τελικά απότομη ανάπτυξη, αλλά εάν οι ανακαλλιέργειες γίνονταν από το ζωμό εμπλουτισμού μετά από 8 έως 12 h επώασης, η

απομόνωση των *Salmonella* ήταν δυνατή χωρίς συντριπτική ανάπτυξη πολλών μελών της εντερικής χλωρίδας.

Τα υλικά καλλιέργειας εμπλουτισμού χρησιμοποιούνται ως ρουτίνα για την ανίχνευση παθογόνων σε δείγματα κοπράνων, επειδή τα παθογόνα αντιπροσωπεύουν συνήθως μόνον ένα μικρό ποσοστό της εντερικής χλωρίδας. Το Selenite-F Broth και το σχετικό υλικό καλλιέργειας, Selenite Cystine Broth, συνιστώνται για χρήση στην ανάκτηση των *Salmonella* με πραγματοποίηση ανακαλλιεργειών μετά από 12 έως 18 ώρεςηεπώασης. Για την ανίχνευση των *Shigella*, το GN Broth είναι ένα ικανοποιητικό υλικό καλλιέργειας εμπλουτισμού.[2] Το Campylobacter Thioglycollate Medium with 5 Antimicrobics συνιστάται για δείγματα για τα οποία υπάρχει υποψία ότι περιέχουν *Campylobacter jejuni* όταν αναμένονται χαμηλοί αριθμοί μικροοργανισμών λόγω καθυστερημένης μεταφοράς στο εργαστήριο ή επειδή έχει παρέλθει το οξύ στάδιο της νόσου.[3]

VI ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η πεπτόνη καζεΐνη παρέχει τις απαραίτητες αζωτούχες και ανθρακούχες ενώσεις. Η λακτόζη στο υλικό καλλιέργειας χρησιμεύει για τη διατήρηση ομοιόμορφης τιμής pH. Κατά την αναγωγή του σεληνιώδους από την ανάπτυξη των βακτηριδίων, παράγονται αλκάλια και μια τέτοια αύξηση στο pH θα μείωνε την τοξικότητα του σεληνιώδους και θα είχε ως αποτέλεσμα την υπερβολική ανάπτυξη εξωγενών βακτηριδίων. Το οξύ που παράγεται από τη ζύμωση της λακτόζης χρησιμεύει στη διατήρηση ενός ουδέτερου ή ελαφρώς μειωμένου pH. Η λειτουργία του φωσφορικού είναι διπλή: χρησιμεύει για τη διατήρηση σταθερού pH και μειώνει επίσης την τοξικότητα του σεληνιώδους, αυξάνοντας έτσι την ικανότητα του υλικού καλλιέργειας. Το σεληνιώδες νάτριο αναστέλλει πολλά είδη των gram-θετικών και gram-αρνητικών βακτηριδίων, συμπεριλαμβανομένων των εντερόκοκκων και των κολοβακτηριδιόμορφων.

VII ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Selenite-F Broth

Σύνθεση* κατά προσέγγιση ανά λίτρο κεκαθαρμένου νερού

Παγκρεατικό αφομοίωμα καζεΐνης	5,0	g
Λακτόζη	4,0	g
Σεληνιώδες νάτριο	4,0	g
Φωσφορικό νάτριο	10,0	g

*Ρυθμισμένο ή/και συμπληρωμένο όπως απαιτείται, έτσι ώστε να πληρούνται τα κριτήρια απόδοσης.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Τα σωληνάρια με σφιγμένα καπάκια θα πρέπει να ανοίγονται προσεκτικά για την αποφυγή τυχόν τραυματισμού λόγω θραύσης του γυαλιού.

Σε κλινικά δείγματα ενδέχεται να υπάρχουν παθογόνοι μικροοργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων των ιών της ηπατίτιδας και του ιού της ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου. Κατά το χειρισμό όλων των ειδών που είναι μολυσμένα με αίμα και άλλα σωματικά υγρά, θα πρέπει να ακολουθούνται οι “Τυπικές προφυλάξεις”[4-7] και οι κατευθυντήριες οδηγίες των ιδρυμάτων. Μετά τη χρήση, τα παρασκευασμένα σωληνάρια, τα δοχεία δείγματος και άλλα μολυσμένα υλικά πρέπει να αποστειρώνονται σε αυτόκαυστο πριν από την απόρριψη.

Οδηγίες φύλαξης

Κατά την παραλαβή, φυλάσσετε τα σωληνάρια στο σκότος στους 2 – 8 °C. Αποφεύγετε την κατάψυξη και την υπερβολική θέρμανση. Μην ανοίγετε έως ότου να είστε έτοιμοι για χρήση. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως. Υλικά καλλιέργειας σε σωληνάρια, τα οποία φυλάσσονται σύμφωνα με την επισήμανση έως ακριβώς πριν από τη χρήση, είναι δυνατό να ενοφθαλμιστούν έως την ημερομηνία λήξης και να επωάζονται για τους συνιστώμενους χρόνους επώασης. Αφήστε το υλικό καλλιέργειας να θερμανθεί σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τον ενοφθαλμισμό.

Αλλοίωση των προϊόντων

Μη χρησιμοποιείτε τα σωληνάρια εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης, αποχρωματισμό, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης.

VIII ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Δείγματα κατάλληλα για καλλιέργεια είναι δυνατό να υποβληθούν σε χειρισμό με χρήση διαφόρων τεχνικών. Για λεπτομερείς πληροφορίες, συμβουλευτείτε τα κατάλληλα κείμενα.[8,9] Τα δείγματα θα πρέπει να λαμβάνονται πριν από τη χορήγηση αντιμικροβιακών παραγόντων. Πρέπει να λαμβάνονται μέτρα για την άμεση μεταφορά στο εργαστήριο.

IX ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρεχόμενο υλικό

Selenite-F Broth

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Βοηθητικά υλικά καλλιέργειας, αντιδραστήρια, μικροοργανισμοί ποιοτικού ελέγχου και εργαστηριακός εξοπλισμός, όπως απαιτείται.

Διαδικασία της εξέτασης

Εφαρμόζετε άσηπτες τεχνικές.

Για κόπρανα και άλλα στερεά υλικά, εναιωρήστε 1 ή 2 g του δείγματος στο ζωμό (περίπου 10 έως 15% κατ' όγκο) και γαλακτωματοποιήστε με μια βελόνα ενοφθαλμισμού, εάν είναι απαραίτητο.

Επωάστε τα σωληνάρια με ξεσφιγμένα καπάκια στους 35 ± 2 °C επί έως 24 ώρεςh. Πρέπει να γίνονται ανακαλλιέργειες μετά από 12 έως 18 ώρεςh επώασης, εάν είναι δυνατό. Οι κολοβακτηριδιόμορφοι μικροοργανισμοί τείνουν να αναπτύσσονται υπερβολικά σε βάρος των παθογόνων μικροοργανισμών εάν επωαστούν για διάστημα μεγαλύτερο από 24 ώρεςh.

Ποιοτικός έλεγχος χρήστη

Δείτε την ενότητα "Διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου".

Όλες οι παρτίδες υλικών έχουν εξεταστεί με τη χρήση των κατάλληλων μικροοργανισμών ποιοτικού ελέγχου. Η συγκεκριμένη εξέταση πληροί τις προδιαγραφές του προϊόντος και τα πρότυπα του CLSI, σε σχετικές περιπτώσεις. Όπως πάντα, η εξέταση Ποιοτικού ελέγχου θα πρέπει να διενεργείται βάσει οι απαιτήσεις ποιοτικού ελέγχου σύμφωνα με τους ισχύοντες τοπικούς, πολιτειακούς ή ομοσπονδιακούς κανονισμούς ή τις απαιτήσεις πιστοποίησης ή/και τις πρότυπες διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου του εργαστηρίου σας.

Για τον προσδιορισμό του pH ποτενσιομετρικά, για μέσα εντός σωληνώσεων, πρέπει να χρησιμοποιείται ένα μονό ηλεκτρόδιο κατάλληλου, μικρού μεγέθους ώστε να ταιριάζει στους σωλήνες. Το άκρο του ηλεκτροδίου πρέπει να τοποθετείται κάτω από την επιφάνεια του υλικού καλλιέργειας ζωμού.

X ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μετά την επώαση, θα πρέπει να παρουσιαστεί αύξηση του αριθμού των παθογόνων μικροοργανισμών, τους οποίους το υλικό καλλιέργειας έχει σχεδιαστεί να επιλέγει και να εμπλουτίζει. Ανακαλλιεργήστε πάνω σε κατάλληλα εκλεκτικά και διαφορικά υλικά καλλιέργειας (π.χ., MacConkey Agar, Hektoen Enteric Agar, XLD Agar, XLT4 Agar και **CHROMagar** Salmonella) για την απομόνωση των παθογόνων μικροοργανισμών για ταυτοποίηση.

XI ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Οι ζωμοί εμπλουτισμού δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως το αποκλειστικό υλικό απομόνωσης. Πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με εκλεκτικά και μη εκλεκτικά υλικά καλλιέργειας επίστρωσης για την αύξηση της πιθανότητας απομόνωσης παθογόνων μικροοργανισμών, ειδικά όταν αυτοί ενδέχεται να υπάρχουν σε μικρούς αριθμούς. Για την ταυτοποίηση, οι μικροοργανισμοί πρέπει να είναι σε καθαρή καλλιέργεια. Για την τελική ταυτοποίηση, θα πρέπει να εκτελούνται μορφολογικές, βιοχημικές ή/και ορολογικές εξετάσεις. Συμβουλευτείτε τα κατάλληλα κείμενα για λεπτομερείς πληροφορίες και τις συνιστώμενες διαδικασίες.[8-10]

XII ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Σε μια μελέτη των Kelly et al.,[11] 8.717 δείγματα κοπράνων υποβλήθηκαν στο εργαστήριο για καλλιέργεια. Τα δείγματα ενοφθαλμίστηκαν απευθείας πάνω σε XLD Agar και μέσα σε ζωμό εμπλουτισμού Selenite. Μετά από 12-18 ώρες, ο ζωμός Selenite ανακαλλιεργήθηκε σε XLD Agar. Το *Salmonella enterica* ταυτοποιήθηκε σε 312 (3,6%) από τα δείγματα κοπράνων. Τα 197 (63%) προήλθαν από προηγουμένως διαγνωσθείσες περιπτώσεις και τα 115 (37%) προήλθαν από προσφάτως ταυτοποιηθείσες περιπτώσεις. Από τα 115 νέα απομονωμένα στελέχη του *S. enterica*, τα 68 ανακτήθηκαν τόσο από το πρωτογενές τρυβλίο XLD όσο και από το ζωμό Selenite. Ωστόσο, τα 47 (41%) αναπτύχθηκαν μόνον μετά τον εμπλουτισμό με Selenite.

XIII ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

Αρ. κατ.	Περιγραφή
221020	**BD BBL** Selenite-F Broth, 8 mL συσκευασία των 10 σωληναρίων μεγέθους K
221021	**BD BBL** Selenite-F Broth, 8 mL δοχείο των 100 σωληναρίων μεγέθους K

XIV ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

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. Yolken (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. Yolken (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.

Τεχνική Εξυπηρέτηση και Υποστήριξη της BD Diagnostics: παρακαλούμε επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD ή τη διεύθυνση www.bd.com/ds.

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

EC REP 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