

PROCEDURI PENTRU CONTROLUL DE CALITATE (Opțional)

I INTRODUCERE

Selenite-F Broth (bulionul cu selenit) este un mediu de îmbogățire pentru *Salmonella* și unele specii de *Shigella*.

II PROCEDURA TESTULUI DE PERFORMANȚĂ

- Inoculați eșantioane reprezentative în culturile enumerate mai jos.
 - Utilizând pipete sterile de unică folosință de 1,0 mL, inoculați tuburile cu 1,0 mL culturi de 18- până la 24 h pe plăci cu bulion de soia **Trypticase** de *Salmonella* Typhimurium și *Shigella sonnei* diluate pentru a conține $10^2 - 10^3$ UFC/mL.
 - În fiecare dintre flacoanele inoculate ca mai sus, adăugați 1,0 mL dintr-o cultură de 18 – 24-h TSB din *Escherichia coli* diluată pentru a conține $10^2 - 10^3$ UFC/mL. Un tub inoculat de bulion Selenit-F este inclus în subcultură și în incubare, ca probă martor.
 - Agitați bine toate flacoanele.
- Incubați toate flacoanele cu capacele desfăcute la $35 \pm 2^\circ\text{C}$ în atmosferă aerobă, timp de 18 – 24 h. După incubare, agitați flacoanele și striati plăcile de agar MacConkey II cu o ansă din fiecare flacon.
- Incubați plăcile cu agar MacConkey II la $35 \pm 2^\circ\text{C}$ într-o atmosferă aerobă, timp de 18 – 24 h. Examinați plăcile cu agar MacConkey II în ceea ce privește creșterea coloniilor de organisme lactozo-pozitive (de culoare roz) și a coloniilor lactozo-negative (incolore).
- Rezultate estimate

Organisme CLSI	ATCC	Recuperare pe agar MacConkey II
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotip Typhimurium	14028	Creștere moderată spre puternică a coloniilor incolore
* <i>Shigella sonnei</i>	9290	Creștere moderată spre puternică a coloniilor incolore
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibiție parțială spre completă (colonii roz)

NOTĂ: Proba martor nu prezintă semne de creștere pe agar MacConkey II.

*Tulpină recomandată pentru controlul calității efectuat de utilizator.

III CONTROLUL SUPLIMENTAR DE CALITATE

- Examinați flacoanele și sticlele așa cum este descris în „Deteriorarea produsului”.
- Examinați vizual flacoanele reprezentative pentru a vă asigura că eventualele defecte fizice nu împiedică utilizarea.
- Determinați pH-ul la temperatura camerei prin metoda potențimetrică în scopul respectării specificațiilor de pH $7,0 \pm 0,2$.
- Incubați flacoanele reprezentative neinoculate la $20 - 25^\circ\text{C}$ și $30 - 35^\circ\text{C}$ și examinați după 7 zile pentru a detecta contaminarea microbiană.

INFORMAȚII DESPRE PRODUS

IV UTILIZARE SPECIFICĂ

Selenite-F Broth este utilizat ca mediu de îmbogățire pentru izolarea *Salmonella* din probe de fecale, urină, sânge, apă, alimente și alte materiale de importanță sanitară.

V REZUMAT ȘI EXPLICAȚII

Selenite-F Broth a fost stabilit de Leifson,¹ care a demonstrat că selenitul avea efect inhibitor asupra coliformelor și asupra altor specii microbiene, cum ar fi streptococii fecali, prezenți în probele de fecale, fiind astfel benefic în recuperarea speciilor de *Salmonella*. El a descoperit că tulpinile inhibitate se spărgau în cele din urmă, dar dacă se realizau subculturi din bulionul de îmbogățire după 8 – 12 h de incubare, izolarea *Salmonella* era posibilă fără o creștere exagerată a multor specii din flora intestinală.

Mediile de îmbogățire sunt utilizate de regulă pentru detectarea agenților patogeni în probele de fecale, deoarece agenții patogeni reprezintă doar un procent minor din flora intestinală. Selenite-F Broth și mediul înrudit, Selenite Cystine Broth, sunt recomandate pentru utilizarea în recuperarea *Salmonella* cu subculturi realizate după 12 – 18 h de incubare. Pentru detectarea *Shigella*, GN Broth este un mediu de îmbogățire suficient.² Mediul Thioglicolat Campylobacter cu 5 antimicrobice este recomandat pentru probele suspectate a conține *Campylobacter jejuni*, atunci când se estimează un număr redus de organisme, din cauza întârzierii transportului la laborator sau din cauza depășirii stadiului acut al bolii.³

VI PRINCIPIILE PROCEDURII

Cazein-peptona asigură compuși necesari pe bază de azot și carbon. Lactoza din mediu contribuie la menținerea unui pH uniform. Atunci când selenitul este redus prin creșterea bacteriilor, se produc baze și creșterea pH rezultată de aici diminuează toxicitatea selenitului și duce la contaminarea cu bacterii externe. Acidul produs prin fermentația lactozei duce la menținerea unui pH neutru sau ușor redus. Funcția fosfatului este dublă; acesta contribuie pe de o parte la menținerea unei valori pH stabile și de asemenea reduce toxicitatea selenitului, măbind capacitatea mediului. Selenitul de sodiu inhibă multe specii de bacterii gram-pozitive și gram-negative, incluzând enterococii și bacteriile coliforme.

VII REACTIVI

Selenite-F Broth

Formulă aproximativă* pentru un litru de apă purificată

Extract pancreatic de cazeină	5,0 g
Lactoză	4,0 g
Selenit de sodiu	4,0 g
Fosfat de sodiu	10,0 g

*Ajustată și/sau suplimentată după cum este necesar pentru a îndeplini criteriile de performanță.

Avertismente și precauții: În scopul diagnosticului *in vitro*.

Flacoanele cu capace bine fixate trebuie deschise cu atenție pentru a evita rănirea ca urmare a spargerii sticlei.

În probele clinice pot fi prezente microorganisme patogene, inclusiv virusurile hepatice și virusul imunodeficienței umane. La manipularea tuturor elementelor contaminate cu sânge și a altor lichide biologice trebuie respectate „Precauțiile standard”⁴⁻⁷ și regulamentul instituției. Flacoanele preparate, recipientele pentru probe și celelalte materiale contaminate trebuie sterilizate prin autoclavare după utilizare, înainte de a fi aruncate.

Instrucțiuni de depozitare: La recepție, depozitați flacoanele într-un loc întunecos, la o temperatură cuprinsă între 2 și 8°C. Evitați înghețul și supraîncălzirea. Deschideți numai înainte de utilizare. Reduceți la minimum expunerea la lumină. Mediile ambalate în flacoane păstrate până la utilizare în condițiile specificate pe etichetă pot fi inoculate până la data de expirare și incubate pentru duratele recomandate de incubare. Lăsați mediul să ajungă la temperatura camerei înainte de inoculare.

Deteriorarea produsului: Nu utilizați flacoanele dacă prezintă semne de contaminare microbiană, decolorare, deshidratare, fisuri sau alte semne de deteriorare.

VIII COLECTAREA ȘI MANIPULAREA PROBELOR

Probele adecvate pentru cultivare pot fi manevrate utilizând tehnici variate. Pentru informații detaliate consultați textele corespunzătoare.^{8,9} Probele trebuie obținute înainte de administrarea agenților antimicrobieni. Trebuie să se asigure livrarea promptă la laborator.

IX PROCEDURA

Materiale furnizate: Selenite-F Broth

Materiale necesare, dar nefurnizate: Medii de cultură auxiliare, reactivi, organisme pentru controlul de calitate și echipamentul de laborator necesar.

Procedura de testare: Respectați tehnicile de asepsie.

Pentru probele de fecale și alte materiale solide, realizați o suspensie din 1 – 2 g de probă în bulion (circa 10 – 15% volumetric) și emulsificați cu o ansă de inoculare, dacă este necesar.

Incubați flacoanele cu capacele desfăcute la 35 ± 2°C pentru maxim 24 h. Subculturile se vor realiza după 12 – 18 h de incubare, dacă este posibil. Bacteriile coliforme au tendința de a contamina agenții patogeni dacă sunt incubate mai mult de 24 h.

Controlul calității efectuat de utilizator: Consultați „Proceduri pentru controlul de calitate”.

Fiecare lot de medii a fost testat prin utilizarea de organisme corespunzătoare pentru controlul de calitate, această testare îndeplinind cerințele din specificațiile produsului și standardele CLSI, în măsura în care acestea sunt relevante. La fel ca întotdeauna, testarea de control al calității trebuie efectuată conform reglementărilor în vigoare la nivel local, statal, federal sau național, conform cerințelor de acreditare și/sau procedurilor de laborator standard pentru controlul de calitate.

Pentru a determina potențiometric valoarea pH a mediului din flacon, trebuie utilizat un electrod individual cu o dimensiune suficient de mică încât să încapă în flacon. Vârful electrodului trebuie introdus până sub suprafața mediului de bulion.

X REZULTATE

După incubare, ar trebui să se înregistreze o creștere a numărului de agenți patogeni pe care mediul trebuie să-i selecteze și îmbogățească. Realizați subculturi pe medii adecvate selective și diferențiale (de ex. MacConkey Agar, Hektoen Enteric Agar, XLD Agar, XLT4 Agar și **CHROMagar** Salmonella) pentru a izola agenții patogeni în vederea identificării.

XI LIMITĂRILE PROCEDURII

Bulionurile de îmbogățire nu trebuie izolate ca mediu unic de izolare. Acestea se utilizează în combinație cu medii pentru plăci selective și neselective pentru a spori probabilitatea de izolare a patogenilor, în special atunci când aceștia sunt prezenți în număr redus. Pentru a fi identificate, microorganismele trebuie să provină din culturi pure. Pentru identificarea finală trebuie efectuate teste morfologice, biochimice și/sau serologice. Pentru informații detaliate și proceduri recomandate, consultați textele corespunzătoare.⁸⁻¹⁰

XII CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

Într-un studiu efectuat de Kelly et al.,¹¹ 8.717 probe de scaun au fost aduse la laborator pentru realizarea de culturi. Probele au fost inoculate direct în XLD Agar și în bulion de îmbogățire cu selenit. După 12 – 18 h, bulionul cu selenit a fost transferat în subcultură pe XLD Agar. *Salmonella enterica* a fost identificată în 312 (3,6%) probe de scaun; 197 (63%) proveneau din cazuri diagnosticate în prealabil și 115 (37%) proveneau de la cazuri nou identificate. Din cei 115 noi izolați de *S. enterica*, 68 au fost recuperați atât de pe placa primară cu XLD cât și din bulionul cu selenit. Totuși, 47 (41%) au crescut numai după îmbogățirea cu selenit.

XIII DISPONIBILITATE

Nr. cat.	Descriere
221020	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, pachet cu 10 flacoane mărimea K
221021	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, cutie cu 100 flacoane mărimea K

XIV REFERINȚE

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.

Service Tehnic și Suport BD Diagnostics: contactați reprezentantul local BD sau 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