



BBL Selenite-F Broth
L007497 • Lähiv. 12 • oktoober 2015



KVALITEEDIKONTROLLI PROTSEDUURID (Valikuline)

I SISSEJUHATUS

Selenite-F Broth rikastusaine *Salmonella* ja mõne *Shigella* liigi isoleerimiseks.

II RESULTATIIVSUSKATSE PROTSEDUUR

1. Inokuleerige tüüpproove allpool loetletud kultuuridega.
 - a. Inokuleerige katsuteid steriilsete ühekordselt kasutatavate 1,0 mL pipettide abil 1,0 mL 18- kuni 24-tunnise *Salmonella typhimuriumi* ja *Shigella sonnei* **Trypticase'i** sojapuljongi kultuuriga, mis on lahjendatud sisalduseni $10^2 - 10^3$ CFU/mL.
 - b. Lisage igasse ülalkirjeldatud viisil inokuleeritud katsutisse 1,0 mL 18- kuni 24-tunnist *Escherichia coli* TSB-kultuuri, mis on lahjendatud sisalduseni $10^2 - 10^3$ CFU/mL. Selenite-F Brothi inokuleeritud katsuti kaasatakse subkultuurimisse ja inkubeerimisse kasvukontrollina.
 - c. Loksutage kõiki katsuteid korralikult.
2. Inkubeerige kõiki katsuteid lahtikeeratud korkidega temperatuuril $35 \pm 2^\circ\text{C}$ aeroobses keskkonnas 18 – 24 tundi. Pärast inkubeerimist loksutage katsuteid ja külvake MacConkey II Agari söötmeplaatidele bakterid igast katsutist.
3. Inkubeerige MacConkey II Agari plaate aeroobses keskkonnas $35 \pm 2^\circ\text{C}$ juures 18 – 24 h jooksul. Uurige MacConkey II Agari plaate laktoospositiivsete (roosad kolooniad) ja laktoosnegatiivsete (värvitud kolooniad) organismide kasvuhulga suhtes.
4. Oodatavad tulemused

CLSI organismid	ATCC	Väljakülvamine MacConkey II Agaril
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotype Typhimurium	14028	Väheste kuni intensiivse kasvuga värvitud kolooniad
* <i>Shigella sonnei</i>	9290	Väheste kuni intensiivse kasvuga värvitud kolooniad
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Osaline kuni täielik inhibitsioon (roosad kolooniad)

MÄRKUS. Kasvukontroll ei näita MacConkey II Agaril mingit kasvu.

*Soovitav organismikülv kasutaja tehtavaks kvaliteedikontrolliks.

III TÄIENDAV KVALITEEDIKONTROLL

1. Uurige katsuteid, nagu on kirjeldatud jaotises „Toote riknemine”.
2. Uurige tüüpikatsuteid ja veenduge, et mingi füüsiline defekt ei takista nende kasutamist.
3. Määrake toatemperatuuril potentsiomeeriliselt pH, et järgida täpsustust $7,0 \pm 0,2$.
4. Inkubeerige inokuleerimata tüüpikatsuteid temperatuuridel $20 - 25^\circ\text{C}$ ja $30 - 35^\circ\text{C}$ ning uurige neid 7 päeva pärast mikroobse saastumise suhtes.

TOOTETEAVE

IV SIHTOTSTARVE

Selenite-F Brothi kasutatakse rikastusainena *Salmonella* isoleerimiseks väljaheidetest, uriinist, veest, toidust ja muudest sanitaarse tähtsusega materjalidest.

V KOKKUVÕTE JA SELGITUS

Selenite-F Brothi mõttes välja Leifson,¹ kes näitas, et seleniit on inhibiitoriks coli-laadsetele bakteritele ja muudele teatud mikroobiliikidele (nt fecal streptococci, mida leidub fekaaliproovides) ning soodustas seega *Salmonella* liikide väljakülv. Ta leidis, et inhibeeritud külvid lõövad viimaks läbi, kuid kui subkultuurid olid valmistatud rikastuspuljongist pärast 8 – 12-tunnist inkubeerimist, oli *Salmonella* isoleerimine võimalik ilma paljude soolefloora liikmete liigse kasvuta.

Rikastussöötmel kasutatakse regulaarselt fekaaliproovidest patogeene tuvastamiseks, kuna patogeenid on tavaliselt vaid väike protsent soolefloorast. Selenite-F Brothi ja seotud söödet Selenite Cystine Broth on soovitatav kasutada *Salmonella* väljakülviks koos 12 – 18-tunnise inkubeerimise järel valmistatud subkultuuridega. *Shigella* tuvastamiseks on GN Broth piisav rikastussööde.² Söödet *Campylobacter* Thioglycollate Medium with 5 Antimicrobics on soovitatav kasutada proovide jaoks, mille puhul kahtlustatakse *Campylobacter jejuni* sisaldamist, kui laborisse hilineva transportimise haiguse akuutse staadiumi möödumise tõttu eeldatakse vähesel arvul organisme.³

VI PROTSEDUURI PRINTSIIBID

Kaseiinpeptoon tagab olulised lämmastiku- ja süsinikuühendid. Söötmes olev laktoos säilitab ühtlase pH. Kui bakteri kasv vähendab seleniiti, toodetakse leelist ja selline pH tõus võib vähendada seleniidi toksilisust ning anda tulemuseks kõrvalise bakteri ülekasvu. Laktoosi fermentatsiooni tulemusena tekkiv hape säilitab neutraalse või veidi madalama pH. Fosfaadil on kaks otstarvet: see säilitab stabiilset pH-d ning vähendab ka seleniidi toksilisust, suurendades nii söötme mahtu. Naatriumseleniidi takistab paljusid grampositiivsete ja gramnegatiivsete bakterite liike, sh enterokokke ja coli-laadseid baktereid.

VII REAGENDID

Selenite-F Broth

Ligikaudne valem* liitri puhastatud vee kohta

Pankrease ensüümidega töödeldud kaseiin	5,0 g
Laktoos	4,0 g
Naatriumseleniit	4,0 g
Naatriumfosfaat	10,0 g

* Vajaduse korral kohandatud ja/või täiendatud toimingu kriteeriumide järgi.

Hoiatused ja ettevaatusabinõud: kasutamiseks *in vitro* diagnostikas.

Tihedalt korgitud katsutid tuleb avada ettevaatlikult, et vältida klaasi purunemisest tingitud vigastusi.

Kliinilistes analüüsides võib esineda patogeenseid mikroorganisme, sh hepatiidi viiruseid ja HI-viirust. Kõigi vere ja muude kehavedelikega saastunud esemete käsitsemisel tuleb järgida „Standardseid ettevaatusabinõusid“⁴⁻⁷ ning asutusesiseseid juhiseid. Pärast kasutamist peavad ettevalmistatud tuubid, proovikonteinerid ja muud saastatud materjalid olema steriliseeritud autoklaavis enne kõrvaldamist.

Säilitusjuhised: säilitage katsuteid tarnimisjärgselt pimedas, temperatuuril 2 – 8 °C. Vältige külmumist ja ülekuumenemist. Avage vahetult enne kasutamist. Viige valguse ligipääs miinimumini. Algse märgistusega kuni kasutamiseni säilitatud katsutites olevaid söötmeid võib inokuleerida kuni aegumiskuupäevani ja inkubeerida soovitatavaks inkubatsiooniajaks. Laske söötmel enne inokulatsiooni soojeneda toatemperatuurini.

Toote riknemine: ärge kasutage plaate, kui neil on näha mikroobse saastumise, värvimuutuse, kuivamise, mõranemise ilminguid või teisi riknemise tunnuseid.

VIII PROOVIDE KOGUMINE JA TÖÖTLEMINE

Kultuuri jaoks kõlblikke proove võidakse käidelda erinevaid tehnikaid kasutades. Üksikasjaliku teabe saamiseks vaadake asjakohaseid lõike.^{8,9} Proovid peavad olema saadud enne antimikroobsete toimeainete manustamist. Tuleb hoolikalt jälgida, et proov saabuks laborisse viitamatuks.

IX PROTSEDUUR

Komplekti kuuluvad materjalid: Selenite-F Broth

Nõutavad, kuid komplekti mittekuuluvad materjalid: täiendavad kultuursöötmed, reagentid, kvaliteedikontrolli organismid ja nõutud laborivarustus.

Katse protseduur: jälgige aseptikanõudeid.

Suspendeerige väljaheitest ja muudest tahketest materjalidest 1 – 2 g proovi puljongis (umbes 10 – 15% mahust) ning vajaduse korral emulgeerige inokulatsiooninõelaga.

Inkubeerige lahtikeeratud korkidega katsuteid temperatuuril 35 ± 2 °C kuni 24 tundi. Subkultuurid tuleb võimaluse korral valmistada 12 – 18-tunnise inkubeerimise järel. Kauem kui 24-tunnisel inkubeerimisel kalduvad coli-laadsed bakterid patogeene ülekasvatama.

Kasutaja tehtav kvaliteedikontroll: vt jaotist „Kvaliteedikontrolli protseduurid“.

Iga söötmepartiid on testitud, kasutades asjakohaseid kvaliteedikontrolli organisme, ning testid vastavad toote spetsifikatsioonile ja CLSI standarditele (kui need on asjakohased). Nagu alati tuleb kvaliteedikontrolli tegemisel järgida kehtivaid kohalikke, osariigi, föderalseid või riiklikke määrusi, akrediteerimisnõudeid ja/või labori standardeid kvaliteedikontrolli protseduure.

Katsutis oleva söötme pH potentsiomeetriliseks määramiseks tuleb kasutada ühekordset elektroodi, mis on piisavalt väike katsutisse mahutamiseks. Elektroodi ots tuleb panna allapoole puljongisöötme pinda.

X TULEMUSED

Pärast inkubeerimist peab patogeene, mille valimiseks ja rikastamiseks sööde on mõeldud, arv olema suurem. Subkultuuride sobivale selektiivsele ja diferentseeritud söötmele (nt MacConkey Agar, Hektoen Enteric Agar, XLD Agar, XLT4 Agar ja **CHROMagar** Salmonella), et patogeene tuvastamiseks isoleerida.

XI PROTSEDUURI PIIRANGUD

Rikastuspuljongit ei tohiks kasutada ainsa isoleerimissöötmena. See on mõeldud kasutamiseks koos selektiivsete ja mitteselektiivsete söötmeplaatidega, et suurendada patogeene isoleerimise tõenäosust, eriti kui neid esineb vähesel hulgal. Tuvastamiseks peavad organismid olema puhtas kultuuris. Täielikuks tuvastamiseks tuleb läbi viia morfoloogilised, biokeemilised ja/või seroloogilised katsed. Üksikasjalikku teavet ja soovitatud protseduure vaadake asjakohastest tekstidest.⁸⁻¹⁰

XII RESULTATIIVSUSE KARAKTERISTIKUD

Kelly ja kaasautorite uuringus¹¹ 8,717 saadeti laborisse kultuuri jaoks väljaheiteproovi. Proovid inokuleeriti otse XLD agarile ja seleniidi rikastuspuljongisse. 12 – 18 tunni pärast subkultuuri seleniidi puljong XLD agarile. *Salmonella enterica* tuvastati 312 (3,6%) väljaheiteproovis, 197 (63%) olid pärit varem diagnoositud juhtumitest ja 115 (37%) äsjatuvastatud juhtumitest. 115 uuest *S. enterica* isolaadist külvati 68 välja nii esmaselt XLD plaadilt kui ka seleniidi puljongist. Siiski kasvasid pärast seleniidi rikastamist ainult 47 (41%).

XIII KÄTTESAADAVUS

Kat nr	Kirjeldus
221020	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, pakendis 10 K-suuruses katsutit
221021	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, karbis 100 K-suuruses katsutit

XIV VIITED

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. Tenover, 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. Tenover, 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.

Tehniline teenistus ja toetamine BD Diagnostics: Võtke ühendust BD kohaliku esindajaga või 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