

POSTUPCI KONTROLE KVALITETE

I UVOD

Tetrathionate Broth Base (Baza bujona tetratonat), s jod-jodidnom otopinom, koristi se kao selektivni medij za obogaćivanje radi izolacije bakterije *Salmonella* iz izmeta, urina, hrane i ostalih materijala od sanitarne važnosti.

II POSTUPAK ISPITIVANJA UČINKOVITOSTI

1. Prije inokulacije dodajte 0,2 mL otopine kalijevog jodida na 10 mL medija, koja se priprema dodavanjem 6,0 g kristala joda i 5,0 g kalijevog jodida u 20,0 mL sterilne pročišćene vode.
2. Inokulirajte reprezentativne uzorke s 0,1 mL suspenzije od 0,5 McFarland jedinica u nastavku navedenih kultura.
3. Tretirajte potkulturom u **BBL Trypticase** sojinom agaru s 5% ovčje krvi na početku (Vrijeme 0) i nakon 18 do 24 sata od inkubacije pri 35 ± 2 °C u aerobnoj atmosferi.
4. Inkubirajte potkulture u aerobnoj atmosferi pri 35 ± 2 °C od 18 do 24 sata te provjerite rast. Držite u hladnjaku pločice iz vremena početka (Vrijeme 0) kako biste usporedili rast potkultura s rastom potkultura na pločicama nakon 24 sata.
5. Očekivani rezultati

Organizmi	ATCC	Rast u sojinom agaru Trypticase s 5% ovčje krvi nakon tretiranja potkulturom u tetratonat bujonima	
		Vrijeme 0	24 h
* <i>Salmonella enterica</i> podskup. <i>enterica</i> serotip Typhimurium	14028	Prosječan do umjeren rast	Umjeren do jak rast
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Prosječan do umjeren rast	Nema rasta do slabog rasta

*Preporučeni soj organizama za korisničku kontrolu kvalitete.

III DODATNA KONTROLA KVALITETE

1. Provjerite ima li u epruvetama znakova pogoršanja kvalitete opisanih u odjeljku „Pogoršanje kvalitete proizvoda“.
2. Vizualno pregledajte reprezentativne epruvete kako biste utvrdili da nemaju fizičkih oštećenja koja mogu utjecati na upotrebu.
3. Odredite pH potencijometrijski na sobnoj temperaturi kako biste provjerili pridržava li se propisanih vrijednosti $8,4 \pm 0,2$.
4. Inkubirajte neinokulirane reprezentativne uzorke na $20 - 25$ °C i $30 - 35$ °C te nakon 7 dana potražite znakove kontaminacije mikrobima.

INFORMACIJE O PROIZVODU

IV NAMJENA

Tetrathionate Broth Base (Baza bujona tetratonat), s jod-jodidnom otopinom, koristi se kao selektivni medij za obogaćivanje radi izolacije bakterije *Salmonella* iz izmeta, urina, hrane i ostalih materijala od sanitarne važnosti.

V SAŽETAK I OBJAŠNJENJE

Tetratonat bujon prvi je opisao Mueller koji je otkrio da medij selektivno inhibira koliformne bakterije te omogućuje razvoj enteričkih patogena gotovo bez ograničenja.¹ Kauffman je promijenio Muellerov medij i postigao viši postotak izolata.^{2,3} Medij je sada formuliran prema napucima Američke udruge za javno zdravstvo (APHA), Međunarodne organizacije AOAC (AOAC) i Američke agencija za hranu i lijekove (FDA).

VI NAČELA POSTUPKA

Žučne soli inhibiraju gram-pozitivne mikroorganizme. Tetratonat koji se formira u mediju dodavanjem jod-jodidne otopine inhibira normalnu intestinalnu floru fekalnih uzoraka.⁴

VII REAGENSI

Tetrathionate Broth Base

Približna formula* po litri pročišćene vode

Pankreatična digestija kazeina	2,5 g	Kalcijev karbonat	10,0 g
Peptična digestija životinjskog tkiva	2,5 g	Natrijev tiosulfat	30,0 g
Žučne soli	1,0 g		

*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

Upozorenja i mjere opreza: Za *in vitro* dijagnostiku.

Epruvete sa zategnutim čepovima treba oprezno otvarati kako ne bi došlo do ozljeda pri pucanju stakla.

U kliničkim uzorcima mogu biti prisutni patogeni mikroorganizmi, uključujući viruse hepatitisa i virus humane imunodeficijencije. Pri rukovanju svim predmetima kontaminiranim krvlju i drugim tjelesnim tekućinama treba se pridržavati „Standardnih mjera opreza“⁵⁻⁸ i institucionalnih smjernica. Pripremljene epruvete, spremnike uzoraka i druge kontaminirane materijale sterilizirajte u autoklavu prije odlaganja u otpad.

Upute za čuvanje: Epruvete po primitku čuvajte na tamnom mjestu na temperaturi od $2 - 8$ °C. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Otvorite neposredno prije upotrebe. Smanjite izlaganje svjetlosti na najmanju moguću mjeru. Medij

pohranjeni u epruvetama prema uputama prije same upotrebe mogu se inokulirati sve do isteka roka valjanosti i inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije. Prije inokulacije pričekajte da se podloga zagrije do sobne temperature.

Pogoršanje kvalitete proizvoda: Ne upotrebljavajte epruvete ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikroorganizmima, promjena boje, taloženja, isparavanja ili ostali znakovi pogoršanja kvalitete.

VIII PRIKUPLJANJE UZORAKA I RUKOVANJE

Uzorci pogodni za kulturu mogu se dobiti raznim tehnikama. Uzorke treba uzeti prije obrade protumikrobnih agensa. Potrebno je izraditi propise za ispravnu dostavu u laboratorij. Više informacija potražite u odgovarajućim tekstovima.⁹⁻¹²

IX POSTUPAK

Priloženi materijal: Tetrathionate Broth Base

Potreban materijal koji se nabavlja zasebno: dodatne hranjive podloge, reagensi, organizmi za kontrolu kvalitete i laboratorijska oprema prema potrebi.

Postupak ispitivanja: Primjenjujte aseptične tehnike.

Jod-jodidnu otopinu pripremite dodavanjem 6,0 g kristala joda i 5,0 g kalijevog jodida u 20,0 mL sterilne pročišćene vode.

Odmah prije inokulacije dodajte 0, 2 mL jod-jodidnu otopinu u svaku epruvetu: Inokulirajte pomoću štapića ili ušice, ili, ako to dopušta veličina epruvete, dodajte izmet, druge čvrste uzorke ili tekući uzorak (otprilike 10% po epruveti) te po potrebi emulgirajte iglom za inokulaciju. Inkubirajte epruvete 12 do 24 h na temperaturi od 35 ± 2 °C u aerobnoj atmosferi.

Korisnička kontrola kvalitete: Pogledajte poglavlje „Postupci kontrole kvalitete”.

Zahtjevi kontrole kvalitete moraju biti ispunjeni u skladu s važećim lokalnim, državnim i/ili saveznim propisima ili uvjetima akreditiranja i postupcima standardne kontrole kvalitete vašeg laboratorija. Preporučuje se da korisnik konzultira relevantne smjernice CLSI-a i propise CLIA za odgovarajuće postupke kontrole kvalitete.

X REZULTATI

Tretirajte potkulturom na selektivnim i diferencijalnim enteričnim pločastim medijima za dalje ispitivanje.

XI OGRANIČENJA POSTUPKA

Obogaćene bujone ne treba koristiti kao jedini izolacijski medij. Namijenjeni su upotrebi sa selektivnim i neselektivnim pločastim medijima kako bi vjerojatnost izoliranja patogena bila veća, osobito ako su prisutni u malom broju u uzorku. U odgovarajućim poglavljima potražite dodatne informacije i preporučene postupke.^{10,12,13-17}

XII RADNA SVOJSTVA

Prije izdavanja ispitana su radna svojstva svih pakiranja tetratonat bujona. Svakoj epruveti dodana je otopina 2% kalijevog jodida. Epruvete su inokulirane s 0,1 mL suspenzije od 0,5 McFarland jedinica soja *S. typhimurium* ATCC 14028 i *E. coli* ATCC 25922 (organizmi se 4 h uzgajaju u **Trypticase** sojinom bujonu te su razrijeđene 100 puta prije inokulacije), a zatim tretirane potkulturom u **Trypticase** sojinom agaru s 5% ovčje krvi u vrijeme početka (Vrijeme 0) i nakon 18 do 24 h inkubacije na temperaturi od 35 ± 2 °C u aerobnoj atmosferi. Pločice se inkubiraju preko noći na temperaturi od 35 ± 2 °C u aerobnoj atmosferi te im se provjerava rast. Epruvete tretirane potkulturom 24 h ostvaruju prosječan do jak rast soja *S. typhimurium*, dok je soja *E. coli* djelomično do potpuno inhibiran.

XIII DOSTUPNOST


Kat. br. **Opis**


298249 **BBL** Tetrathionate Broth Base, pakiranje od 10 epruveta veličine K, 10 mL

XIV REFERENCE

1. Mueller, L. 1923. Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. C.R. Soc. Biol. (Paris), 89:434-437.
2. Kaufmann, F. 1930. Ein kombiniertes Anreicherungsverfahren für Typhus- und Paratyphusbazillen. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig., 113:148-152.
3. Kaufmann, F. 1935. Weitere Erfahrungen mit den kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonellabacillen. Z. Hyg. Infektionskr. 117:26-32.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
6. 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.
7. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
8. 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.
9. Isenberg, H.D., F.D. Schoenkecht, and A. von Graevenitz. 1979. Cumitech 9, Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating ed., S.J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby Company, St. Louis.

11. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1999. Specimen collection, transport, and storage, p. 33-63. *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.
12. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification p. 442-458. *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.
13. Downes and Ito (ed.). 2001. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
14. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2001. *The U.S. pharmacopeia 25/The national formulary 20-2002*. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville, Md.
15. Cunniff, P. (ed.). 1995. *Official methods of analysis of AOAC International*, 16th ed. AOAC International, Arlington, Va.
16. U.S. Food and Drug Administration. 1995. *Bacteriological analytical manual*, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, Md.
17. Bopp, C.A., F.W. Brenner, J.G. Wells, and N.A. Strockbine. 1999. *Escherichia, Shigella, and Salmonella*, p. 459-474. *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.

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds

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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, BBL and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD