

**POSTUPCI KONTROLE KVALITETE (Neobavezno)****I UVOD**

Bujon Selenite-F obogaćena je podloga za izolaciju vrsta *Salmonella* i nekih vrsta *Shigella*.

**II POSTUPAK ISPITIVANJA UČINKOVITOSTI**

1. Inokulirajte reprezentativne uzorke s dolje navedenim kulturama.
  - a. Pomoću sterilne jednokratne pipete od 1,0 mL inokulirajte epruvete s 1,0 mL kultura sojinog bujona **Trypticase** od 18 do 24 h za vrstu *Salmonella* Typhimurium i *Shigella sonnei* razrijeđenima do  $10^2$ – $10^3$  CFU/mL.
  - b. U svaku epruvetu inokuliranu prema prethodnim uputama, dodajte 1,0 mL TSB (Trypticase Soy Broth) kulture od 18 do 24 h TSB vrste *Escherichia coli* razrijeđene na  $10^2$ – $10^3$  CFU/mL. Epruveta s bujonom Selenite-F koja nije inokulirana uključena je za stvaranje potkulture i inkubira se za kontrolu rasta.
  - c. Sve epruvete dobro izmiješajte mikserom.
2. Sve epruvete inkubirajte s odvrnutim čepovima na  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  u aerobnoj atmosferi 18–24 h. Nakon inkubacije, epruvete izmiješajte mikserom i razmažite na agarne pločice MacConkey II s jednom ušicom za svaku epruvetu.
3. Inkubirajte agarne pločice MacConkey II na  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  18–24 h u aerobnoj atmosferi. Provjerite rast na agarnim pločicama MacConkey II za laktoza-pozitivne (ružičaste kolonije) i laktoza-negativne (bezbojne kolonije) organizme.
4. Očekivani rezultati

CLSI organizmi	ATCC	Izolacija na agaru MacConkey II
* <i>Salmonella enterica</i> podskup. <i>enterica</i> serotip Typhimurium	14028	Prosječan do jak rast bezbojnih kolonija
* <i>Shigella sonnei</i>	9290	Prosječan do jak rast bezbojnih kolonija
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Djelomična do potpuna inhibicija (ružičaste kolonije)

**NAPOMENA:** Kontrola rasta ne pokazuje rast na agaru MacConkey II.

\*Preporučeni soj organizama za korisničku kontrolu kvalitete.

**III DODATNA KONTROLA KVALITETE**

1. Pregledajte epruvete prema objašnjenju iz poglavlja „Pogoršanje kvalitete proizvoda“.
2. Vizualno pregledajte reprezentativne epruvete kako biste utvrdili da nemaju fizičkih oštećenja koja mogu utjecati na upotrebu.
3. Odredite potencijetrom pH vrijednost na sobnoj temperaturi kako biste provjerili odgovara li propisanim vrijednostima  $7,0 \pm 0,2$ .
4. Inkubirajte neinokulirane reprezentativne epruvete na  $20 - 25^\circ\text{C}$  i  $30 - 35^\circ\text{C}$  te nakon 7 dana potražite znakove kontaminacije mikrobima.

**INFORMACIJE O PROIZVODU****IV NAMJENA**

Bujon Selenite-F koristi se kao podloga za obogaćivanje radi izolacije bakterije *Salmonella* iz izmeta, urina, vode, hrane i ostalih materijala od sanitarne važnosti.

**V SAŽETAK I OBJAŠNJENJE**

Bujon Selenite-F stvorio je Leifson<sup>1</sup> koji je pokazao da selenit pokazuje inhibiciju za koliforme i neke druge mikrobne vrste, kao što su fekalni streptokoki u fekalnim uzorcima, a prema tome, koristan je za izolaciju vrsta *Salmonella*. Otkrio je da inhibirani sojevi vremenom počinju naglo rasti, ali ako se napravi potkultura iz obogaćenog bujona nakon 8–12 h inkubacije, izolacija vrsta *Salmonella* moguća je bez jakog rasta većeg broja članova crijevne flore.

Obogaćena podloga rutinski se koristi za detekciju patogena u fekalnim uzorcima jer patogeni obično predstavljaju samo mali dio crijevne flore. Bujon Selenite-F i srodna podloga, bujon Selenite Cystine, preporučuju se za korištenje u izolaciji vrste i podvrsta *Salmonella* koje nastaju nakon 12–18 h inkubacije. Za otkrivanje vrsta *Shigella*, zadovoljavajuće rezultate daje obogaćeni bujon GN.<sup>2</sup> Podloga *Campylobacter* Thioglycollate s 5 antimikroba preporučuje se za uzorke za koje se sumnja da sadrže *Campylobacter jejuni* ako se očekuje mali broj organizama zbog zakašnjelog transporta u laboratorij ili zato što je prošlo akutno stanje bolesti.<sup>3</sup>

## VI NAČELA POSTUPKA

Kazeinski pepton daje esencijalne dušikove i ugljikove spojeve. Laktoza u podlozi služi za održavanje stalnog pH. Ako se rastom bakterija smanjuje količina selenita, nastaje alkalna okolina i povećava se pH te se time smanjuje toksičnost selenita i dolazi do pretjeranog rasta stranih bakterija. Kiselina koja nastaje fermentacijom laktoze služi za održavanje neutralnog ili lagano povišenog pH. Fosfat ima dvojni ulogu; održava stabilan pH i smanjuje toksičnost selenita pa tako povećava kapacitet podloge. Natrijev selenit inhibira brojne vrste gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija uključujući enterokoke i koliforme.

## VII REAGENSI

### Selenite-F Broth

Približna formula\* po litri pročišćene vode

Pankreatična digestija kazeina .....	5,0 g
Laktoza .....	4,0 g
Natrijev selenit .....	4,0 g
Natrijev fosfat .....	10,0 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“<sup>4-7</sup> i institucionalnih smjernica. Nakon upotrebe, pripremljene epruvete, spremnici za uzorke i ostali kontaminirani materijali moraju se sterilizirati u autoklavu prije odlaganja.

**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. Hranjive podloge u epruvetama koje se čuvaju prema uputama na naljepnici prije same upotrebe mogu se inokulirati sve do isteka roka valjanosti i inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije. Prije inokulacije pričekajte da se hranjiva podloga zagrije do sobne temperature.

**Pogoršanje kvalitete proizvoda:** Ne upotrebljavajte epruvete ako pokazuju vidljive znakove kontaminacije mikrobima, promjene boje, sušenja ili ostale znakove pogoršanja kvalitete.

## VIII PRIKUPLJANJE UZORAKA I RUKOVANJE

Uzorci pogodni za hranjivu podlogu mogu se obraditi raznim tehnikama. Detaljne informacije potražite u odgovarajućim tekstovima.<sup>8,9</sup> Uzorke treba uzeti prije obrade protumikrobnih agensa. Potrebno je izraditi propise za brzu dostavu u laboratorij.

## IX POSTUPAK

**Priloženi materijal:** Selenite-F Broth

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

**Postupak ispitivanja:** Primjenjujte aseptične tehnike.

Za izmet i ostale čvrste materijale, rastopite 1 – 2 g uzorka u bujon (približno 10 – 15% volumena) i emulgirajte i iglom za inokulaciju, prema potrebi.

Epruvete inkubirajte s odvrnutim čepovima 35 ± 2°C 24 h. Potkulture bi trebale nastati nakon 12 – 18 h inkubacije, ako je to moguće. Koliformi će vjerojatno rasti više od patogena ako se inkubiraju duže od 24 h.

Korisnička kontrola kvalitete: **Pogledajte poglavlje „Postupci kontrole kvalitete“.**

Svaka serija podloga ispitana je pomoću odgovarajućih organizama za kontrolu kvalitete, a ta su ispitivanja, kada je to bitno, usklađena sa specifikacijama i standardima instituta CLSI. Kao i uvijek, ispitivanja za kontrolu kvalitete moraju se provoditi u skladu s važećim lokalnim, državnim, saveznim ili nacionalnim propisima, uvjetima akreditiranja i/ili standardnim postupcima kontrole kvalitete vašeg laboratorija.

Za određivanje pH vrijednosti podloge u epruveti potencijetrom treba koristiti jednu elektrodu dovoljno male veličine da stane u epruvetu. Vrh elektrode treba postaviti ispod površine podloge bujona.

## X REZULTATI

Nakon inkubacije trebao bi se povećati broj patogena koje podloga treba izolirati i obogatiti. Tretirajte potkulturom na odgovarajućoj selektivnoj i diferencijalnoj podlozi (npr., agar MacConkey, agar Hektoen Enteric, agar XLD, agar XLT4 i **CHROMagar Salmonella**) da biste izolirali patogene za identifikaciju.

## 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. Za identifikaciju, organizmi moraju biti u čistoj kulturi. Za konačnu identifikaciju potrebno je provesti morfološka, biokemijska i/ili serološka ispitivanja. U odgovarajućim poglavljima potražite dodatne informacije i preporučene postupke.<sup>8-10</sup>

## XII RADNA SVOJSTVA

U studiji koju su radili Kelly i suradnici,<sup>11</sup> 8.717 uzoraka stolice poslano je u laboratoriju radi izolacije kulture. Uzorci su inokulirani izravno na agar XLD i na obogaćenom bujonu Selenite. Nakon 12 – 18 h bujon Selenite tretiran je potkulturom na agaru XLD. *Salmonella enterica* identificirana je u 312 (3,6%) uzoraka stolice; 197 (63%) bilo je iz ranije dijagnosticiranih slučajeva, a 115 (37%) bilo je iz slučajeva koji su novoidentificirani. Od 115 novih izolata *S. enterica*, 68 je izolirano iz primarne ploče XLD i bujona Selenite. Međutim, 47 (41%) je raslo samo nakon obogaćivanja selenitom.

## XIII DOSTUPNOST

Kat. br.	Opis
221020	<b>BD BBL Selenite-F Broth</b> , 8 mL, pakiranje od 10 epruveta veličine K
221021	<b>BD BBL Selenite-F Broth</b> , 8 mL, pakiranje od 100 epruveta veličine K

## XIV REFERENCE

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. 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.

Tehnički servis i podrška na BD Diagnostics: obratite se lokalnom predstavniku tvrtke BD ili posjetite [www.bd.com/ds](http://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