

POSTUPCI KONTROLE KVALITETE

I UVOD

SIM (Sulfide Indole Motility) Medium [Hranjiva podloga SIM (sulfid-indol-pokretljivost)] koristi se za utvrđivanje proizvodnje sulfida, stvaranja indola i pokretljivosti enteričkih mikroorganizama.

II POSTUPAK ISPITIVANJA UČINKOVITOSTI

- Inokulirajte reprezentativne uzorke s dolje navedenim kulturama.
 - Odvijte čepove, stavite u kipuću vodu i ohladite prije upotrebe.
 - Inokulirajte epruvete tako da čvrstom iglom probijete središnji dio hranjive podloge do otprilike pola njene dubine pritom koristeći 10^{-1} otopine staničnih kultura sojinog bujona **Trypticase** stare 18 – 24 sata.
 - Inkubirajte epruvete s odvijenim čepovima na $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ u aerobnoj atmosferi.
- Pregledajte epruvete po isteku 18 – 24 i 42 – 48 sati i potražite rast, pokretljivost i sulfid.
- Po isteku 48 sati provjerite je li došlo do proizvodnje indola. Dodajte 0,2 mL Kovacsevog reagensa u epruvete. Pratite nastajanje ružičaste do crvene boje (pozitivna reakcija).
- Očekivani rezultati

Organizam	ATCC	H ₂ S	Indol	Pokretljivost
* <i>Escherichia coli</i>	25922	–	+	+
* <i>Salmonella enterica</i> podvrsta <i>enterica</i> serotip Typhimurium	13311	+	–	+
* <i>Shigella sonnei</i>	9290	–	–	–

*Preporučeni soj organizama za korisničku kontrolu kvalitete.

III DODATNA KONTROLA KVALITETE

- Pregledajte epruvete prema objašnjenju iz poglavlja „Pogoršanje kvalitete proizvoda“.
- Vizualno pregledajte reprezentativne epruvete kako biste utvrdili da nemaju fizičkih oštećenja koja mogu utjecati na upotrebu.
- 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

Hranjiva podloga SIM koristi se za utvrđivanje razlike između enteričkih bacila na temelju proizvodnje sulfida, stvaranja indola i pokretljivosti.

V SAŽETAK I OBJAŠNENJE

Proizvodnja hidrogen sulfida, stvaranje indola i pokretljivost karakteristike su koje pomažu u identifikaciji vrste *Enterobacteriaceae*, posebice *Salmonella* i *Shigella*. Hranjiva podloga SIM je stoga korisna u postupku identifikacije enteričkih patogena.

VI NAČELA POSTUPKA

Sastojci hranjive podloge SIM omogućuju utvrđivanje tri aktivnosti pomoću kojih je moguće razlikovati enteričke bakterije. Natrijev tiosulfat i željezo amonijev sulfat indikatori su proizvodnje hidrogen sulfida. Željezo amonijev sulfat reagira s plinom H₂S i proizvodi željezo sulfid, crni talog.¹ Pepton iz kazeina sadrži velike količine triptofana koji napadaju određeni mikroorganizmi i na taj način proizvode indol. Indol se otkriva dodavanjem kemijskih reagensa po završetku razdoblja inkubacije. Otkrivanje pokretljivosti moguće je zbog polukrute prirode hranjive podloge. Rast iz linije uboda ukazuje na činjenicu da je ispitni organizam pokretljiv.

VII REAGENSI

SIM Medium

Približna formula* po litri pročišćene vode

Pankreatična digestija kazeina 20,0 g

Peptična digestija životinjskog tkiva	6,1 g
Željezo amonijev sulfat	0,2 g
Natrijev tiosulfat	0,2 g
Agar	3,5 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.

Primjenjujte aseptične tehnike i utvrđene mjere opreza protiv mikrobioloških opasnosti tijekom svih postupaka. Nakon upotrebe, pripremljene epruvete, spremnici za uzorke i ostali kontaminirani materijali moraju se sterilizirati u autoklavu prije odlaganja.

Upute za čuvanje: Po primitku, epruvete čuvajte na tamnom mjestu pri temperaturi od 2 – 25°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.^{2,3} Uzorke treba uzeti prije obrade protumikrobnih agensa. Potrebno je izraditi propise za brzu dostavu u laboratorij.

IX POSTUPAK

Priloženi materijal: SIM Medium

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

Postupak ispitivanja: Primjenjujte aseptične tehnike.

Odvijte čepove, stavite u kipuću vodu i ohladite prije upotrebe. Koristeći lagani inokulat čiste stanične kulture, ubodite inokulacijsku iglu do pola u središnji dio epruvete. Inkubirajte epruvete s odvijenim čepovima 18 – 48 sati na 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-ja (bivšeg NCCLS-a) i propise CLIA kako bi se upoznao s odgovarajućim postupcima kontrole kvalitete.

X REZULTATI

Po završetku inkubacije promatrajte ne biste li uočili pokretljivost (raspršen rast izvan linije uboda ili zamućenost na cijeloj hranjivoj podlozi) i proizvodnju H₂S (zacrnjivanje uz liniju uboda). Za otkrivanje proizvodnje indola dodajte tri ili četiri kapi Kovrčsevovog reagensa² i promatrajte ne biste li uočili crvenu boju (pozitivna reakcija).

Pogledajte odgovarajuće reference za aktivnosti određenih organizmima.^{4,6}

XI OGRANIČENJA POSTUPKA

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.²⁻⁶

XII RADNA SVOJSTVA

Prije izdavanja ispitana su radna svojstva svih serija hranjive podloge SIM. Reprezentativni uzorci serije ispituju se sa staničnim kulturama sojinog bujona **Trypticase** razrijeđenog s 10⁻¹ vrste *Salmonella* Typhimurium (ATCC 13311), *Escherichia coli* (ATCC 25922) i *Shigella sonnei* (ATCC 9290) tako da se inokulacijskom iglom probode središnji dio hranjive podloge do pola. Epruvete se inkubiraju s odvijenim čepovima na 35 ± 2°C i očitavaju nakon 18 – 24 te nakon 42 – 48 sati kako bi se otkrio rast, pokretljivost, stvaranje indola i proizvodnja sulfida. Rast svih organizama umjeren je do jak unutar razdoblja od 48 sati. Objе vrste, *E. coli* i *Salmonella* Typhimurium pokretljive su što dokazuje uzorak rasta organizama u hranjivoj podlozi; odnosno, rast počinje u središnjoj liniji inokulacije i ravnomjerno se širi kroz hranjivu podlogu. *S. sonnei* nije pokretljiva; odnosno, rast je vidljiv samo duž središnje linije inokulacije. Samo *Salmonella* Typhimurium pokazuje

pozitivne rezultate za proizvodnju hidrogen sulfida, na što ukazuje zacrnjivanje hranjive podloge. Nakon 48 sati inkubacije, u svaku se epruvetu dodaje 0,2 mL Kovčicevog reagensa. Samo *E. coli* pokazuje pozitivne rezultate za stvaranje indola na što ukazuje srednje ružičasta do tamno ružičasta boja reakcije u epruveti.

XIII DOSTUPNOST

Kat. br.	Opis
221010	BD BBL SIM Medium , pakiranje od 10 epruveta veličine K
221011	BD BBL SIM Medium , pakiranje od 100 epruveta veličine K

XIV REFERENCE

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller (ed.) 2007. Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
5. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
6. 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.

Tehnički servis i podrška na BD Diagnostics: obratite se lokalnom predstavniku tvrtke BD ili posjetite 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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.