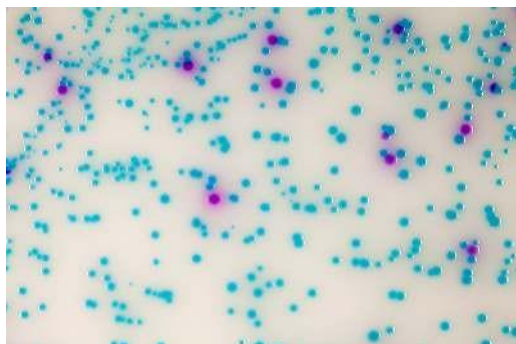


NAUDOJIMO
INSTRUKCIJOS

ChromArt

CHROMOGENINIS SALMONELLA AGARAS

Paruoštos naudojimui lėkštelės



CSA: Salmonella kolonijos (rausvai raudona spalva) ir E.aerogenes kolonijos (mėlynai žalia spalva)

1-TIKSLINIS NAUDOJIMAS

In vitro diagnostikai. Selektyvinė ir chromogeninė terpė *Salmonella spp.* iš klinikinių ir neklinikinių mėginių išskirti ir diferencijuoti.

2 – SUDĖTIS – TIPINĖ FORMULĖ*

Peptonai	10.0 g
Selektyvūs junginiai	12.0 g
Cefsulodinas	5.0 mg
Chromogeninis mišinys	0.9 g
Emulsikliai	11.4 g
Drumstiklis	10.0 g
Agaras	15.0 g
Išgrynintas vanduo	1000 mL

* Formulė gali būti pakoreguota ir (arba) papildyta, kad atitiktų reikalaujamus našumo kriterijus

3 - METODO PRINCIPAS IR PROCEDŪROS PAAIŠKINIMAS

Salmonella spp. tebėra viena svarbiausių per maistą plintančio gastroenterito priežasčių. Fluorogeniniai ir chromogeniniai testai ir terpės, skirtos *Salmonella spp.* specifiniam nustatymui, yra prieinami jau mažiausiai 30 metų. 1987 m. "Biolife Italiana" sukūrė ir pasiūlė greitą fluorogeninį atrankos reagentą (MUCAP testą) salmonelių kolonijoms identifikuoti, pagrįstą specifinio salmonelių fermento - C₈ esterazės - aptikimu naudojant fluorogeninį 4-metilumbelliferono konjuguotą substratą.¹ Po kelerių metų tas pats fermento C₈ esterazės aptikimo principas buvo panaudotas kuriant chromogeninę terpę - chromogeninį salmonelių agarą, kuris pasižymėjo labai dideliu specifiskumu ir jautrumu *Salmonella spp.*^{2,3} Chromogeninis salmonelių agaras yra selektyvi ir diagnostinė terpė, naudinga *Salmonella spp.* išskyrimui iš klinikinių ir neklinikinių mėginių ir numanomam kolonijų identifikavimui. ISTISAN ataskaitoje⁴ chromogeninis salmonelių agaras įtrauktas į dengiamųjų terpių asortimentą *Salmonella spp.* aptikti, o ISO standartuose, skirtuose salmonelėms aptikti maiste ir vandenyje, chromogeninės terpės įtrauktos kaip antroji dengiamoji terpė^{5,6}

Peptonai suteikia anglies, azoto, vitaminų ir mikroelementų bakterijų augimui. Į terpę įtraukti šie selektyvūs junginiai: cefsulodinas, trečiosios kartos cefalosporino antibiotikas, labai specifiskai veikiantis *P. aeruginosa* ir *S. aureus*, natrio desoksicholatas, slopinantis gramteigiamų ir kai kurių gramneigiamų bakterijų augimą, ir tergitolis⁴, aktyvus daugiausia prieš *Proteus spp.*

Salmonella nuo kitų augančių organizmų atskiriama:

- chromogeninis C₈ esterazės fermento substratas, kurį skaldo *Salmonella spp.*, išskiriant netirpų purpurinės ir raudonos spalvos chromoforą.

- chromogeninis gliukopiranozido darinys, kurį skaldo β-gliukozidazė, išskiriant netirpų mėlynai žalią chromoforą. Kai kurios Enterobacteriaceae, įskaitant *Klebsiella* ir *Enterobacter*, bet ne *Salmonella*, yra teigiamos β-gliukozidazės atžvilgiu ir augdamos sudaro mėlynai žalias arba tamsiai mėlynas kolonijas, net jei jos yra teigiamos esterazės atžvilgiu, todėl jas lengva atskirti nuo purpurinės raudonos spalvos *Salmonella* kolonijų. Šios terpės chromogeniniai ir selektyvūs junginiai taip pat leidžia aptikti retas laktozės teigiamas *Salmonella* padermes, kurių nepavyko aptikti tradicinėse terpėse, pagrįstose laktozės fermentacija. Chromogeninis salmonelių agaras taip pat naudingas *S.Typhi* ir *S.Paratyphi* nustatyti. Paruoštos naudoti lėkštelės yra junginio, kuris suteikia terpei baltą nepermatomą foną ir išryškina kolonijų spalvą.

4 – FIZINĖS CHARAKTERISTIKOS

Terpės išvaizda

balkšvas nepermatomas

Galutinis pH 20-25 °C temperatūroje

7.2 ± 0.2

5 - PATEIKTOS MEDŽIAGOS - PAKUOTĖ

Produktas	Tipas	Kat.nr.	Pakuotė
Chromogeninis Salmonella Agaras CND:W0104010405; EDMA:14.01.04.01; RDM: 1456123/R	Paruoštos naudojimui lėkštelės	545350	2 x 10 plokštelių Ø 90 mm pirminė pakuotė: 2 celofaniniai paketėliai antrinė pakuotė: kartoninė dėžutė

6 – REIKALINGOS NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

Sterilios kilpos ir tamponai, inkubatorius ir reikiama laboratorinė įranga, pagalbinės terpės ir reagentai kolonijoms identifikuoti.

7 - MĖGINIAI

Chromogeninis salmonelių agaras skirtas klinikinių mėginių, pavyzdžiui, išmatų ir tiesiosios žarnos tepinėlių, bakteriologiniam apdoravimui.

Turėtų būti taikoma geroji klinikinių mėginių surinkimo, transportavimo ir laikymo laboratorinė praktika.⁷ Išsamesnės informacijos apie neklinikinių mėginių surinkimą ir paruošimą ieškokite atitinkamuose standartiniuose metoduose.^{5,6}



8 – BANDYMO PROCEDŪRA

Leiskite lėkštelėms pasiekti kambario temperatūrą ir išdžiovinkite terpės paviršių. Inokuliuokite ir perbraukite mėginį kilpele per keturis plokštelės kvadrantus, kad gautumėte gerai izoliuotas kolonijas, užtikrindami, kad 1 ir 4 sekcijos nepersidengtų. Jei medžiaga kultivuojama tiesiai iš tampono, tamponą perbraukite per nedidelį paviršiaus plotą ties kraštu; tada iš šio inokuliuoto ploto padarykite dryžius. Maksimalus salmonelių išgavimas iš fekalijų mėginių pasiekiamas naudojant sodrinimo etapą Selenito sultinyje, po to subkultūrą atliekant ant chromogeninio salmonelių agarų ir ant antros dengiamosios terpės.

Inkubuokite inokuliuotas plokšteles su mėginiu arba su mėginiu, praturtintu skystoje terpėje, aerobinėmis sąlygomis 35-37 °C temperatūroje 18-24 val.

Remkitės atitinkamais šaltiniais apie salmonelių aptikimą maisto produktuose ir vandenyje.^{5,6}

9 – SKAITYMAS IR INTERPRETAVIMAS

Po inkubacijos stebėkite bakterijų augimą ir užrašykite išskirtų kolonijų morfologines ir chromatines savybes. Kolonijų spalvų aiškinimas:

Mikroorganizmas	Augimo charakteristikos
<i>Salmonella</i> spp.	geras augimas, rausvai raudonos kolonijos
<i>Salmonella</i> spp. lac+	geras augimas, rausvai raudonos kolonijos
<i>Salmonella</i> Typhi	geras augimas, rausvai raudonos kolonijos
<i>E.coli</i>	prastas augimas su bespalvėmis kolonijomis
<i>Enterobacter</i> spp.	augimas su mėlynai žaliomis kolonijomis
<i>Klebsiella</i> spp.	prastas augimas su mėlynai žaliomis kolonijomis
<i>Pseudomonas</i> spp.	slopinamas
<i>Proteus</i> spp.	prastas augimas su blyškiai rudomis arba žaliomis kolonijomis
Gram-positive bacteria	slopinamas

10 – VARTOTOJO KOKYBĖS KONTROLĖ

Visos pagamintos gaminių partijos išleidžiamos į prekybą atlikus kokybės kontrolę, kad būtų patikrinta atitiktis specifikacijoms. Tačiau galutinis vartotojas yra atsakingas už kokybės kontrolės bandymų atlikimą pagal galiojančias vietas taisykles, laikantis akreditacijos reikalavimų ir laboratorijos patirties. Toliau išvardyti kai kurie kokybės kontrolei naudingi bandymų štamai.

KONTROLINIAI KAMIENAI	INKUBACIJA T° / t / ATM	TIKĖTINI REZULTATAI
<i>S.Typhimurium</i> ATCC 14028	35-37°C / 18-24h / A	augimas, rausvai raudonos kolonijos
<i>S. Enteritidis</i> ATCC 13076	35-37°C / 18-24h / A	augimas, rausvai raudonos kolonijos
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	35-37°C / 18-24h / A	augimas, mėlynai žalios kolonijos
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	35-37°C / 18-24h / A	slopinamas

A: aerobinė inkubacija; ATCC yra "American Type Culture Collection" prekės ženklas.

11 – ATLIKIMO CHARAKTERISTIKOS

Babic-Ergeg ir kt.² įvertino chromogeninį salmonelių agarą, naudodami 3 000 išmatų mėginių, iš kurių 45 buvo teigiami salmonelių atžvilgiu, įskaitant SS agarą kaip pamatinę terpę. Autoriai nurodė, kad išskiriant ir preliminariai identifikuojant salmonelių kolonijas jautrumas buvo 100 %, o specifiskumas - 99 %.

Kitame nepriklausomame tyrime³ nustatyta, kad 50 grynų klinikinės kilmės salmonelių kultūrų sukėlė visas specifines chromatines reakcijas; iš kitų 80 tirtų gramneigiamų bakterijų padermių, nepriklausančių salmonelių genčiai, 3 iš 3 *P.aeruginosa* kamienų ir 1 iš 3 *A.baumannii* kamienų sukėlė chromatines reakcijas, panašias į *Salmonella* spp. (raudonai rausvos kolonijos), likusios 76 *Enterobacteriaceae* padermės sukėlė netipines chromatines reakcijas; 20 iš 20 gramteigiamų bakterijų padermių buvo visiškai slopinamos.

Chromogeninis salmonelių agaras buvo įvertintas atliekant vidinį tyrimą, lyginant jį su Hektoen Enteric Agar (HEA). Produktivumas, selektyvumas ir specifiskumas buvo įvertinti pusiau kiekybiniu ekometrinio metodu, inkubuojant 35-37 °C temperatūroje 18-24 valandas, naudojant 43 bakterijų padermes: 8 tikslinius kamienus ir 35 netikslinius kamienus. 8 *Salmonella* padermės, įskaitant 2 *S.Typhi*, augo gerai, jų kolonijos buvo purpurinės raudonos spalvos; 3 *Shigella* kamienai augo prasčiau nei HEA, jų kolonijos buvo bespalvės; 22 *Enterobacteriaceae* kamienai, priklausantys 9 gentims, augo prasčiau nei HEA, jų kolonijos buvo bespalvės arba mėlynai žalios; 4 *P. aeruginosa* kamienai buvo visiškai slopinami; 2 nefermentuojantys kamienai buvo visiškai slopinami, o *A.hydrophila* augo su purpurinio raudonumo kolonijomis; 1 Gram teigiamas kamienas buvo visiškai slopinamas, o 1 mielių kamienas buvo iš dalies slopinamas ir tai rodė bespalves kolonijas.

Prieš išleidžiant į rinką, visų paruoštų naudoti chromogeninio salmonelių agarų plokštelių partijų ir paruoštų plokštelių gamybai naudojamų žaliavų (dehidratuotas chromogeninis salmonelių agaras kat.nr. 405350, papildytas salmonelių selektyviniu priedu kat.nr. 4240013) reprezentatyvus mėginys ištiriamas dėl produktyvumo specifiskumo ir selektyvumo, lyginant rezultatus su anksčiau patvirtinta etalonine partija.

Produktivumas tikrinamas kiekybiniu testu su tiksliais *S.Enteritidis* ATCC 13076 ir *S.Typhimurium* ATCC 14028 kamienais; į chromogeninio salmonelių agarą lėkšteles inokuliuojama kolonijų suspensijos dešimtainiais praskiedimais fiziologiniame tirpale ir inkubuojama 35-37 °C temperatūroje 18-24 valandas. Kolonijos suskaičiuojamos ant tiriamosios partijos (TB) ir etaloninės partijos (RB) ir apskaičiuojamas produktyvumo santykis (Pr=UFCTB/UFCTB). Jei Pr yra ≥ 0,7 ir jei kolonijų spalva yra tipiška (purpurinės raudonos spalvos kolonijos), rezultatai laikomi priimtinais ir atitinkančiais specifikacijas.

Specifiškumas vertinamas pusiau kiekybiniu ekometrinio metodu su šiomis netikslinėmis padermėmis: *S.flexneri* ATCC 12022, *E.aerogenes* ATCC 13048, *E.coli* ATCC 8739; *E.aerogenes* auga su mėlynai žaliomis kolonijomis, *S.flexneri* augimas neslopinamas ir kolonijos yra bespalvės, *E.coli* iš dalies slopinamas su bespalvėmis kolonijomis. Selektyvumas įvertintas modifikuotu Miles-Misra paviršinių lašų metodu, į plokšteles įskiepiant 0,5 McFarlando suspensijos 0,5 McFarlando tirpalo dešimtainiais praskiedimais nuo 10⁻¹ iki 10⁻⁴ netikslinių padermių *P.vulgaris* ATCC 13315, *A.calcoaceticus* ATCC 19606, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *A.hydrophila* ATCC 7965, *E.faecalis* ATCC 19433, *Mucor* CBM1. *A.hydrophila* iš dalies slopinamas ir auga su purpurinėmis kolonijomis; kitų netikslinių padermių augimas visiškai slopinamas, kai skiedimas 10⁻¹.





12 – METODO APRIBOJIMAI

- Vienoje terpėje tik retais atvejais galima išgauti visus mėginyje esančius patogenus. Todėl salmonelėms išskirti reikia naudoti papildomas terpes, pasižyminčias mažesniu selektyvumu, pavyzdžiui, Mac Conkey Agar; kitos terpės, skirtos kitiems žarnyno ligų sukėlėjams išskirti, turi būti užkrėstos mėginiu.
- Kai kurie *Pseudomonas*, *Acinetobacter* ir *Aeromonas* kamienai, atsparios terpės antimikrobinėms medžiagoms, gali augti su raudonai rausvomis kolonijomis, kurias nuo *Salmonella* galima atskirti oksidazės testu.
- Augimo greitis ant lėkštelių taip pat priklauso nuo salmonelių mitybos poreikių. Gali būti, kad kai kurie kamienai, pasižymintys tam tikromis medžiagų apykaitos savybėmis, gali neaugti ant terpės arba augti bespalviai (pvz., *Salmonella enterica* serovar Dublin auga baltomis kolonijomis).
- Net jei mikrobų kolonijos lėkštelėse atskiriamos pagal jų morfologines ir chromatines savybes, rekomenduojama atlikti biocheminius, imunologinius, molekulinis arba masių spektrometrijos tyrimus, kad būtų galima visiškai identifikuoti izoliatus iš grynos kultūros. Jei reikia, atlikite jautrumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimą.
- Ši pasėlio terpė skirta kaip pagalbinė priemonė infekcinei ligai diagnozuoti; rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į paciento klinikinę anamnezę, mėginio kilmę ir kitų diagnostinių tyrimų rezultatus.

13 - ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

- Šis produktas yra kokybinei in vitro diagnostikai, skirtas tik profesionaliam naudojimui; jį turi naudoti tinkamai apmokyti ir kvalifikuoti laboratorijos darbuotojai, laikydamiesi patvirtintų biologinio pavojaus atsargumo priemonių ir aseptinių metodų.
- Šis produktas nėra klasifikuojamas kaip pavojingas pagal galiojančius Europos teisės aktus.
- Šioje terpėje yra gyvūninės kilmės žaliavų. Ant ir post mortem gyvūnų kontrolė, taip pat kontrolė žaliavų gamybos ir platinimo ciklo metu negali visiškai garantuoti, kad šiuose produktuose nėra užkrečiamųjų ligų sukėlėjų. Todėl rekomenduojama paruoštas naudoti lėkšteles laikyti potencialiai užkrečiamomis ir su jomis elgtis laikantis įprastų specialių atsargumo priemonių: nevalgyti, neįkvėpti ir neleisti, kad jos patektų ant odos, akių, gleivinių. Iš interneto svetainės www.biolifeitaliana.it atsisiųskite USE pareiškimą, kuriame aprašomos "Biolife Italiana" įgyvendintos priemonės, skirtos su gyvūnų užkrečiamosiomis ligomis susijusiai rizikai mažinti.
- Visi laboratoriniai mėginiai turėtų būti laikomi infekciniais.
- Laboratorijos teritorija turi būti kontroliuojama, kad į ją nepatektų teršalai, pvz., kultūrų terpė ar mikrobinės medžiagos.
- Kiekviena šios terpės lėkštelė skirta tik vienkartiniam naudojimui.
- Paruoštos naudoti lėkštelės nelaikomos "steriliu gaminiu", nes joms netaikoma galutinė sterilizacija, o kontroliuojamas biologinis užterštumas, neviršijantis nustatytų specifikacijų, nurodytų kokybės kontrolės sertifikate.
- Prieš šalindami visas biologškai pavojingas atliekas sterilizuokite. Nepanaudotą terpę ir lėkšteles su mėginiais ar mikrobų padermėmis utilizuokite pagal galiojančius vietos teisės aktus.
- Analizės sertifikatus ir saugos duomenų lapą galima rasti interneto svetainėje www.biolifeitaliana.it.
- Šiame dokumente pateikta informacija buvo apibūdinta pagal mūsų geriausias žinias ir galimybes ir yra tinkamo gaminio naudojimo gairės, tačiau be jokių išipareigojimų ar atsakomybės. Visais atvejais būtina laikytis galiojančių vietos įstatymų, taisyklių ir standartinių procedūrų tiriant mėginius, paimtus iš žmonių ir gyvūnų organinių rajonų, aplinkos mėginius ir žmonėms ar gyvūnams vartoti skirtus produktus. Mūsų informacija neatleidžia mūsų klientų nuo atsakomybės patikrinti mūsų gaminio tinkamumą numatytam tikslui.

14 – LAIKYMO SĄLYGOS IR GALIOJIMO LAIKAS

Gavę lėkšteles, laikykite jas originalioje pakuotėje, 2-8 °C temperatūroje, atokiau nuo tiesioginės šviesos. Tinkamai laikomos lėkštelės gali būti naudojamos iki tinkamumo vartoti termino pabaigos. Nenaudokite lėkštelių pasibaigus šiam terminui. Lėkštelės iš atidaryto plastikinio pakėtelio gali būti naudojamos 7 dienas, jei laikomos švarioje vietoje 2-8 °C temperatūroje. Nenaudokite lėkštelių, jei plastikinis maišelis pažeistas arba lėkštelė sudaužyta. Nenaudokite lėkštelių su gedimo požymiais (pvz., mikrobinis užterštumas, dehidratacija, terpės susitraukimas ar įtrūkimai, netipinė spalva, drėgmės perteklius).

15 - NUORODOS

- Pontello M, Russolo S, Carozzi F, Bottiroli U. Naujo greitojo metodo (MUCAP testo), skirto numanomai identifikuoti salmonelės pirminėje izoliacinėje terpėje, įvertinimas. 5th Int. Simp. on Rapid Method and Aut. in Microb. and Immunol. Florencija, 1987 m. lapkričio 4-6 d.
- Babic-Erceg A et al. 12th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Milan, 2002 m. balandžio 24-27 d.
- Andreoni S. ir kt. 2002 m. Microbiologia Medica.
- Istituto Superiore di Sanità Le infezioni da Salmonella: diagnostica, epidemiologia e sorveglianza. Caterina Graziani, Pasquale Galetta, Luca Busani, Anna Maria Dionisi, Emma Filetici, Antonia Ricci, Alfredo Caprioli, Ida Luzzi 2005, 49 p. Rapporti ISTISAN 05/27
- ISO 6579-1:2017 Maisto grandinės mikrobiologija. Horizontalusis salmonelių aptikimo, skaičiavimo ir serotipavimo metodas.
- ISO 19250:2010 Vandens kokybė. Salmonella rūšių nustatymas.
- Baron EJ, Mėginių paėmimas, transportavimas ir apdorojimas: Bakteriologija. In Jorgensen JH, Carroll KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.270

TAIKOMŲ SIMBOLIŲ LENTELĖ

REF arba REF Katalogo numeris	LOT Partijos kodas	IVD In vitro Diagnostikai Medicininiai prietaisai	Gamintojas	Naudot iki
Temperatūros apribojimai	Turinys pakankamas <n> bandymams	Žiūrėkite naudojimo instrukcijas	Tik vienkartiniam naudojimui	Trapus, elkitės atsargiai

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

Versija	Pakitimų aprašymas	Data
Naudojimo instrukcija (IFU) - 2 peržiūra	Atnaujintas išdėstymas ir turinys pagal IVDR 2017/746	2020/05

Pastaba: nedideli tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai | peržiūrų istoriją neįtraukti.

