



BBL Selenite-F Broth



L007497 • Rev. 12 • Oktober 2015

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE (Optional)

I EINFÜHRUNG

Selenite-F Broth (Selenit-F-Bouillon) ist ein Anreicherungsmedium für die Isolierung von *Salmonella* und einigen *Shigella*-Spezies.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Mit Hilfe von sterilen 1,0-mL-Einweg-Pipetten Röhrchen mit 1,0 mL von 18 bis 24 h alten **Trypticase-Sojabouillon**-Kulturen von *Salmonella* Typhimurium und *Shigella sonnei* inokulieren, die auf eine Konzentration von 10^2 – 10^3 KBE/mL verdünnt wurden.
 - b. In jedes der so inokulierten Röhrchen 1,0 mL einer 18 bis 24 h alten TSB-Kultur von *Escherichia coli* geben, die auf eine Konzentration von 10^2 – 10^3 KBE/mL verdünnt wurde. Als Wachstumskontrolle wird ein nicht inokuliertes Röhrchen mit Selenit-F-Bouillon bei der Subkultivierung und Inkubation mitgeführt.
 - c. Alle Röhrchen gut mit dem Vortexmischer mischen.
2. Alle Röhrchen mit gelösten Verschlusskappen 18 bis 24 h lang bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren. Die Röhrchen nach der Inkubation im Vortexmischer mischen und eine Impföse voll aus jedem der Röhrchen auf MacConkey-II-Agarplatten ausstreichen.
3. Die MacConkey-II-Agarplatten 18 bis 24 h lang bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren. Die MacConkey-II-Agarplatten im Hinblick auf das Ausmaß des Wachstums lactose-positiver (rosa Kolonien) und lactose-negativer (farblose Kolonien) Mikroorganismen untersuchen.
4. Zu erwartende Ergebnisse
CLSI-Kontrollorganismen (ATCC-Stämme)

Isolierung auf MacConkey-II-Agar

* <i>Salmonella enterica</i> Subsp. <i>enterica</i> Serotyp Typhimurium (14028)	Mittelmäßiges bis starkes Wachstum farbloser Kolonien
* <i>Shigella sonnei</i> (9290)	Mittelmäßiges bis starkes Wachstum farbloser Kolonien
* <i>Escherichia coli</i> (25922)	Teilweise bis vollständige Hemmung (rosa Kolonien)

HINWEIS: Die Wachstumskontrolle zeigt kein Wachstum auf MacConkey-II-Agar.

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für die Qualitätskontrolle durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Röhrchen untersuchen, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben.
2. Repräsentative Röhrchen visuell überprüfen, um sicherzustellen, dass ihre Nutzung nicht durch bereits vorhandene Beschädigungen beeinträchtigt werden kann.
3. Den pH-Wert mit einem Potentiometer bei Raumtemperatur überprüfen, um festzustellen, ob die Spezifikation von $7,0 \pm 0,2$ eingehalten wird.
4. Nicht inokulierte repräsentative Röhrchen bei 20 – 25 °C und bei 30 – 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf Kontamination durch Mikroorganismen untersuchen.

PRODUKTINGFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Selenite-F Broth (Selenit-F-Bouillon) dient als Anreicherungsmedium für die Isolierung von *Salmonella* aus Kot, Urin, Wasser, Nahrungsmitteln und sonstigen Substanzen von hygienischer Bedeutung.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Selenite-F-Bouillon wurde von Leifson¹ entwickelt, der nachwies, dass Selenit Coliforme und bestimmte andere Mikroorganismen-Spezies, wie Fäkal-Streptokokken, die in Kotproben vorkommen, hemmt und daher für die Gewinnung von *Salmonella*-Spezies nützlich ist. Leifson

entdeckte, dass den gehemmten Stämmen letztendlich ein Durchbruch gelang. Wurden jedoch nach 8- bis 12-stündiger Inkubation Subkulturen der Anreicherungsbouillon angelegt, konnte *Salmonella* ohne überwältigendes Wachstum zahlreicher Spezies der Darmflora isoliert werden.

Anreicherungsmedien werden routinemäßig für den Nachweis von Pathogenen in Kotproben herangezogen, da die Pathogene gewöhnlich nur einen geringen Prozentsatz der Darmflora ausmachen. Selenite-F Broth (Selenit-F-Bouillon) und das verwandte Medium, Selenit-Cystin-Bouillon, werden für die Gewinnung von *Salmonella* mit Subkultivierung nach 12- bis 18-stündiger Inkubation empfohlen. Für den Nachweis von *Shigella* ist GN-Bouillon ein akzeptables Anreicherungsmedium.² *Campylobacter* Thioglycollate Medium with 5 Antimicrobics (*Campylobacter*-Thioglykollat-Medium mit 5 Antibiotika) wird für Proben empfohlen, die vermutlich *Campylobacter jejuni* enthalten und nur eine geringe Anzahl von Mikroorganismen aufweisen, da sich die Überführung in das Labor verzögerte oder das akute Krankheitsstadium bereits verstrichen ist.³

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Das Caseinpepton liefert wichtige Stickstoff- und Kohlenstoffverbindungen. Die Lactose im Medium dient zur Wahrung eines gleichmäßigen pH-Werts. Wenn das Selenit durch Bakterienwachstum reduziert wird, entsteht Lauge, sodass dieser Anstieg des pH-Werts die Toxizität des Selenits schmälert und zu übermäßig starkem Wachstum von Fremdbakterien führt. Die bei der Lactose-Fermentierung entstehende Säure bewirkt die Wahrung eines neutralen oder leicht erhöhten pH-Werts. Die Funktion des Phosphats ist zweifach: es hält den pH-Wert stabil und reduziert außerdem die Toxizität des Selenits, was die Medienkapazität erhöht. Natriumselenit hemmt zahlreiche Spezies grampositiver und gramnegativer Bakterien, einschließlich Enterokokken und Coliforme.

VII REAGENZIEN

Selenite-F Broth

Ungefähre Zusammensetzung* je 1 L destilliertes Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	5,0	g
Lactose	4,0	g
Natriumselenit	4,0	g
Natriumphosphat	10,0	g

*Nach Bedarf auf die Leistungskriterien abgestimmt und/oder ergänzt.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Röhrchen mit fest angebrachten Kappen sollten vorsichtig geöffnet werden, um Verletzungen durch Glasbruch zu vermeiden.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“⁴⁻⁷ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Präparierte Röhrchen, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach ihrer Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Die Röhrchen nach Erhalt bei 2 – 8 °C im Dunkeln lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. In den Röhrchen gemäß Kennzeichnung aufbewahrte Medien können bis zum Verfallsdatum inokuliert und für die empfohlene Zeitdauer inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts

Röhrchen mit Anzeichen von Kontamination durch Mikroorganismen, Verfärbung, Eintrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Detaillierte Informationen der einschlägigen Fachliteratur entnehmen.^{8,9} Die Proben sollten vor Anwendung von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Selenit-F Broth

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Aseptisch vorgehen.

Für Kot und sonstige Feststoffe 1 oder 2 g Probe in der Bouillon suspendieren (ca. 10 bis 15 Volumenprozent) und erforderlichenfalls mit Hilfe einer Impfnadel emulgieren.

Die Röhrchen mit gelockerten Kappen bis zu 24 h lang bei 35 ± 2 °C inkubieren. Sofern möglich, sollten Subkulturen nach 12- bis 18-stündiger Inkubation angelegt werden. Coliforme neigen zum Überwuchern der Pathogene, wenn die Inkubation länger als 24 h dauert.

Qualitätskontrolle durch den Anwender

Siehe „Maßnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Jede Mediencharge wurde gemäß entsprechenden Qualitätskontrollorganismen getestet und dieser Test erfüllt die Produktspezifikationen und die zutreffenden CLSI-Standards. Wie immer sollten Qualitätskontrolltests unter Einhaltung der kommunal, landesweit und/oder bundesweit geltenden Vorschriften, der Zulassungsbestimmungen und/oder der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen.

Eine Einzelelektrode, deren Durchmesser klein genug für die Röhrchen ist, sollte verwendet werden, um den pH-Wert von Medien in Röhrchen potentiometrisch zu ermitteln. Die Elektrodenspitze sollte unter der Oberfläche von Bouillonmedien platziert werden.

X ERGEBNISSE

Nach der Inkubation sollte die Anzahl der Pathogene, für deren Selektion und Anreicherung das Medium ausgelegt ist, erhöht sein. Auf geeigneten Selektiv- und Differenzierungsmedien subkultivieren (z.B. auf MacConkey-Agar, Hektoen-Enteroagar, XLD-Agar, XLT4-Agar und **CHROMagar-Salmonella**), um die Pathogene zwecks Identifizierung zu isolieren.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Anreicherungsbouillons nicht als einziges Isolierungsmedium heranziehen. Sie sollten in Verbindung mit selektiven und nicht-selektiven Ausstrichmedien verwendet werden, um die Wahrscheinlichkeit der Pathogen-Isolierung zu erhöhen, besonders wenn diese in geringer Anzahl vorliegen. Zur Identifizierung muss der Mikroorganismus in Reinkultur vorliegen. Für die endgültige Identifizierung sind morphologische, biochemische und/oder serologische Tests erforderlich. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.⁸⁻¹⁰

XII LEISTUNGSMERKMALE

Im Rahmen einer von Kelly et al.¹¹ durchgeführten Studie wurden 8717 Stuhlproben zur Kultivierung beim Labor eingereicht. Die Proben wurden direkt auf XLD-Agar und in Selenit-Anreicherungsbouillon inokuliert. Nach 12 – 18 h erfolgte eine Subkultivierung der Selenit-Bouillon auf XLD-Agar. *Salmonella enterica* wurde in 312 (3,6 %) der Stuhlproben identifiziert; 197 (63 %) stammten von bereits zuvor diagnostizierten Fällen und 115 (37 %) von neu identifizierten Fällen. Von den 115 neuen *S. enterica*-Isolaten wurden 68 sowohl auf der primären XLD-Platte als auch in der Selenit-Bouillon nachgewiesen. Jedoch zeigten 47 (41 %) erst nach Selenit-Anreicherung Wachstum.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

221020 **BD BBL** Selenite-F Broth, 8-mL-Packung mit 10 Röhrchen der Größe K

221021 **BD BBL** Selenite-F Broth, 8-mL-Karton mit 100 Röhrchen der Größe K

XIV LITERATUR

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. Jorgensen, 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.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder 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