

# SALMONELLA SHIGELLA AGAR

## INSTRUKCJA UŻYCIA GOTOWEGO PODŁOŻA NA PŁYTCE

### 1. Przeznaczenie

Salmonella Shigella Agar jest podłożem selektywnym używanym do jakościowego wykrywania i izolacji Gram-ujemnych pałeczek jelitowych, a zwłaszcza *Salmonella* i *Shigella* w próbkach materiałów klinicznych pochodzących od człowieka, szczególnie z próbek kału, oraz w innych próbkach.

**Funkcją podłoża Salmonella Shigella Agar jest wspomaganie diagnozy** u pacjentów z objawami wskazującymi na potencjalne zakażenie Gram-ujemnymi patogenami jelitowymi, w szczególności z rodzaju *Shigella* i *Salmonella*.

Pałeczki z rodzaju *Salmonella* to jedne z najczęstszych przyczyn zatruc pokarmowych. Chorobotwórczość tych drobnoustrojów różni się w zależności od poszczególnych serowarów i może być różna w obrębie tego samego podgatunku. Mogą tu być serowary odpowiedzialne za choroby inwazyjne ale i takie, które są odpowiedzialne za zatrucia pokarmowe o samoograniczającym się przebiegu. Najczęściej izoluje się odmiany serologiczne gatunku *Salmonella enterica* subsp. *enterica* takie jak: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Hadar* czy *S. Infantis*.

Rodzaj *Shigella* obejmuje cztery gatunki: *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* i *S. sonnei*. Wszystkie gatunki są bezwzględnie patogenne i powodują czerwonką bakteryjną.

Nr kat.:	Rodzaj podłoża:	Opakowanie:
1250PD90	podłoże stałe na płytce, gotowe do użycia	1x10 szt (90 mm)

### 2. Zasada działania

Obecność soli żółci, zieleni malachitowej oraz cytrynianu sodu w podłożu hamuje wzrost mikroorganizmów Gram – dodatnich oraz *Enterobacteriales* innych niż *Salmonella* i *Shigella*. Różnicowanie pałeczek jelitowych możliwe jest dzięki dodatkowi laktozy. Bakterie posiadające zdolność do fermentacji laktozy produkują kwas i rosną w postaci czerwonych kolonii. Wskaźnikiem pH w podłożu jest czerwień obojętna. Natomiast mikroorganizmy nie posiadające zdolności do fermentacji laktozy rosną w postaci bezbarwnych kolonii. Cytrynian żelaza stanowi wskaźnik produkcji siarkowodoru. Bakterie z rodzaju *Salmonella* wytwarzają reduktazę tiosiarczanową, która uwalnia cząsteczki siarczku obecne w tiosiarczanie sodu. Cząsteczki te łączą się z jonami wodorowymi tworząc H<sub>2</sub>S, który reaguje z cytrynianem amonowo-żelazowym tworząc precipitaty, widoczne w postaci kolonii z czarnym centrum.

### 3. Skład podłoża

w g/l wody destylowanej:	
Ekstrakt wołowy	5,0 g
Enzymatyczny hydrolizat tkanek zwierzęcych	2,5 g
Enzymatyczny hydrolizat kazeinowy	2,5 g
Laktoza	10,0 g
Cytrynian sodu	8,5 g
Sole żółci	8,5 g
Tiosiarczan sodu	8,5 g
Zieleń malachitowa	0,00033 g
Cytrynian żelaza	1,0 g
Agar	13,5 g
Czerwień obojętna	0,025 g

pH 7,0 ± 0,2 w temperaturze 25°C.

Wygląd podłoża - Podłoże klarowne, lososiowe.

### 4. Przygotowanie pożywki

Pożywka jest gotowa do użycia. Bezpośrednio przed użyciem pożywkę należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

### 5. Wyposażenie wymagane, nie dostarczone

Sprzęt ogólnolaboratoryjny niezbędny do wykonania badań, w tym ciepłarka laboratoryjna.

## 6. Środki ostrożności

- Produkt przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego.
- Produkt niezautomatyzowany.
- Podłoże zawiera składniki pochodzenia zwierzęcego, co może wiązać się z obecnością biologicznych czynników chorobotwórczych, dlatego z podłożem należy postępować zgodnie z zasadami pracy z materiałem biologicznym potencjalnie zakaźnym.
- Nie należy używać płytek, jeżeli na podłożu są widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.
- Nie używać płytek uszkodzonych.
- Nie używać płytek po terminie ważności.
- Nie dopuszcza się ponownej inkubacji wcześniej posianych płytek.
- W celu zapewnienia poprawnych wyników, należy postępować zgodnie z niniejszą instrukcją.
- W przypadku, gdy postępowanie z pożywką podczas wykonywania będzie odbiegało od opisanego w niniejszej instrukcji, laboratorium jest zobowiązane do przeprowadzenia walidacji przyjętego postępowania.

## 7. Przechowywanie

Płytki z podłożem należy przechowywać w temperaturze 2–12°C do upływu terminu ważności. Podłoża przechowywać w oryginalnym opakowaniu, w pozycji odwróconej z dala od bezpośredniego źródła światła. Aby uniknąć zamrożenia agaru, nie należy przechowywać płytek blisko ścian lodówki. Aby uniknąć pojawienia się większej ilości wody skroplonej na wieczku płytki nie należy otwierać zbyt często lodówki i nie przechowywać podłoży w przepełnionej lodówce.

## 8. Termin ważności

Podłoże przechowywane w temperaturze 2–12°C zachowuje swoje właściwości do 3 miesięcy od daty produkcji.

## 9. Materiał do badań

Próbkami do badań są próbki świeżego kału zawierające krew lub pasma śluzu, wymazy z odbytu, a także inne próbki materiałów klinicznych. Próbkę umieścić w szczelnym, sterylnym pojemniku z zakrętką. Nie należy dopuścić do wyschnięcia stolca. Jeśli pacjent nie jest w stanie wydaląc stolca, pobrać próbkę wymazu z odbytu.

Próbki do badań dostarczyć do laboratorium w ciągu 2 godzin od pobrania. Jeśli próbka nie będzie dostarczona do laboratorium w tym czasie, należy ją umieścić w podłożu transportowym Cary-Blair lub Amies i umieścić w temperaturze lodówki. W temperaturze lodówki próbki w podłożu transportowym są stabilne do 2 dni.

## 10. Sposób wykonania

1. Przed użyciem podłoże należy doprowadzić do temperatury pokojowej.
2. Posiać próbkę rozprowadzając ją na powierzchni agaru.
3. Jeżeli próbka została pobrana na wymazówkę - końcówkę wymazówki delikatnie obracać na niewielkim obszarze agaru tuż przy brzegach płytki, a następnie wykonać posiew redukcyjny przy użyciu jałowej ezy.
4. Posiane płytki inkubować w warunkach tlenowych, w temperaturze  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ .
5. Wynik wzrostu odczytać po 18-24 godzinach inkubacji.
6. Dodatkowo należy dokonać posiewu na inne mniej selektywne podłoże agarowe (np. MacConkey Agar + Crystal Violet). Pozwala to na wyhodowanie drobnoustrojów Gram-ujemnych, gdy ich ilość w próbce jest mała.

## 11. Odczyt i interpretacja wyników wzrostu

Po zakończeniu inkubacji obserwować:

- obecność wzrostu kolonii bakteryjnych
- morfologię kolonii
- wybarwienie kolonii

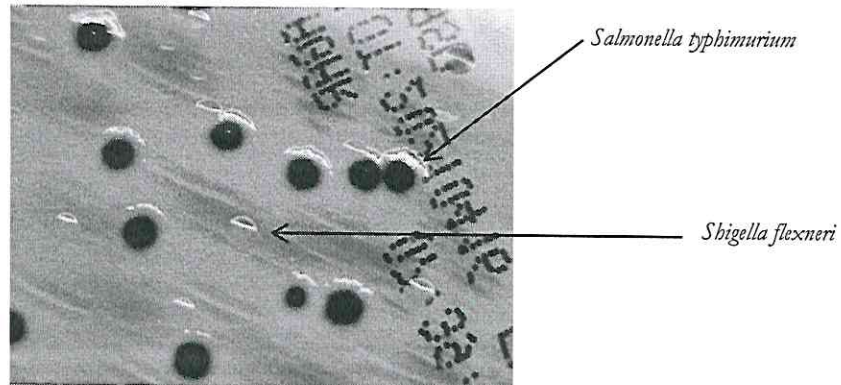
Typowa morfologia kolonii wyhodowanych na podłożu Salmonella Shigella Agar:

Mikroorganizm	Typowa morfologia kolonii
<i>Escherichia coli</i>	Słaby wzrost kolonie różowe do czerwonych kolonii
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Słaby wzrost, różowe kolonie
<i>Proteus</i>	Kolonie bezbarwne z czarnym środkiem
<i>Salmonella</i>	Kolonie bezbarwne, zazwyczaj z czarnym środkiem



<i>Shigella</i>	Kolonie bezbarwne
<i>Pseudomonas</i>	Słaby wzrost, kolonie nieregularne
Bakterie Gram-dodatnie	Brak wzrostu

W celu ostatecznej identyfikacji wyhodowanych drobnoustrojów, należy przeprowadzić dodatkowe badania i / lub testy potwierdzające przy użyciu innych metod wykorzystywanych w laboratorium.



Morfologia kolonii i sposób wzrostu bakterii z rodzaju *Salmonella* i *Shigella* na podłożu Salmonella Shigella Agar

## 12. Kontrola jakości

Właściwości odżywcze i selektywność podłoża należy kontrolować z użyciem szczepów odniesienia dających oczekiwane reakcje dodatnie i ujemne. Badanie należy wykonywać używając czystych, świeżych hodowli szczepów odniesienia dających pożądane reakcje. Do przeprowadzenia kontroli jakości podłoża, należy użyć następujących szczepów odniesienia:

Szczep referencyjny:	Intensywność wzrostu:	Morfologia kolonii:
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	dobry wzrost	bezbarwne z czarnym środkiem
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	dobry wzrost	bezbarwne
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu	różowe do czerwonych z widoczną strefą strontu
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	brak wzrostu	-

Dopuszcza się stosowanie innych szczepów odniesienia zapewniających spójność pomiarową, zgodnie z procedurami i instrukcjami kontroli jakości obowiązującymi w laboratorium. Procedury kontroli jakości powinny spełniać wymagania obowiązujących przepisów oraz wytycznych/rekomendacji.

## 13. Ograniczenia metody

- Z powodu zmienności wymagań odżywczych podłoża, niektóre szczepy mogą rosnąć słabo, albo nie rosnąć wcale na podłożu Salmonella Shigella Agar.
- Kolonie bakterii rodzaju *Proteus* spp. mogą swoim wyglądem przypominać bakterie z rodzaju *Salmonella*, dlatego zaleca się wykonanie dodatkowych testów potwierdzających.
- Niektóre szczepy bakterii *Salmonella* i *Shigella* posiadają zdolność do rozkładu laktozy i mogą rosnąć na podłożu w postaci kolonii przypominających coliformy.

## 14. Charakterystyka metody

Diagnostyka biegunek infekcyjnych ma ogromne znaczenie nie tylko w postawieniu diagnozy i identyfikacji czynnika etiologicznego w celu ustalenia adekwatnej terapii, ale również z powodów epidemiologicznych. W wielu przypadkach leczenie jest zachowawcze i polega na uzupełnianiu niedoboru elektrolitów oraz odpowiednim nawodnieniu organizmu, jednak znajomość czynnika etiologicznego ma ogromne znaczenie w dochodzeniu epidemiologicznym, identyfikacji nosicieli oraz zapobieganiu zakażeniom.

Na rynku dostępnych jest wiele podłoży do izolacji pałeczek jelitowych w tym *Salmonella* i *Shigella*. Ich wartość diagnostyczna jest różna. Jednym z podłoży jest podłoże Salmonella Shigella Agar.

Ruiz J. i wsp. na łamach Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. przebadali sześć podłoży hodowlanych do izolacji pałeczek jelitowych z próbek kału (Rambach Agar, Salmonella Shigella Agar, Novobiocin-brilliant green-glycerol-lactose NBGL, zmodyfikowane półpłynne podłoże Rappaport-Vassiliadis MSR/V oraz Salmonella Detection and Identification-2 SM2).

Badaniu poddano 500 próbek kału pochodzącego od człowieka. 81 próbek było pozytywnych pod kątem izolacji *Salmonella* na przynajmniej jednym podłożu hodowlanym. Na podstawie badań swoistość podłoża Salmonella Shigella Agar określono na 99,3% a czułość na 69,1%.

Podobne badania przeprowadzili ci sami autorzy, analizując pięć podłoży: Salmonella Shigella Agar, Hektoen Enteric Agar, Bismuth Sulfite Agar, Novobiocin-brilliant green-glycerol-lactose NBGL oraz Salmonella Detection and Identification-2 SM2. Przebadano 1000 rutynowych próbek kału. Hodowlę prowadzono nanosząc materiał bezpośrednio na podłoże stałe oraz wykonując namnożenie na bulionie Selenite F. W posiewie bezpośrednim dodatnią hodowlę uzyskano dla 74 próbek. Czulość dla podłoża Salmonella, Shigella Agar wynosiła 64,9% a dodatnia wartość predykcyjna 18,7%. Po namnożeniu w bulionie Selenite F uzyskano 88 dodatnich próbek. Czulość dla podłoża Salmonella, Shigella Agar wynosiła 92% a dodatnia wartość predykcyjna 17%.

#### 15. Postępowanie ze użytymi podłożami

Podłoża po badaniach oraz nieużyte podłoża należy utylizować zgodnie z aktualnie obowiązującymi przepisami dotyczącymi postępowania z odpadami medycznymi oraz procedurami laboratorium odnośnie utylizacji materiałów zakaźnych i potencjalnie zakaźnych.

#### 16. Zgłaszanie zdarzeń niepożądanych

Zgodnie z obowiązującymi przepisami, zdarzenia niepożądane i incydenty, które można bezpośrednio powiązać z opisywanym podłożem, należy zgłaszać producentowi oraz Prezesowi Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych na adres:

Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych  
Al. Jerozolimskie 181C, 02-222 Warszawa;  
Telefon: 48 22 492-11-00  
Fax: 48 22 492-11-09

#### 17. Piśmiennictwo



1. Bopp, C. A., F. W. Brenner, P. I. Fields, J. G. Wells, and N. A. Stockbrine. 2003. Escherichia, Shigella, and Salmonella. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London.
3. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Ruiz J., Nunez M.L., Lorente I., Perez J., Simarro E., Gomez J., Performance of six culture media for isolation of Salmonella species from stool samples, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1996, Dec, 922-6
5. Ruiz J., Nunez M.L., Lorente I., Perez J., Gomez J., Comparison of five plating media for isolation of Salmonella species from human stools, J. Clin. Microbiol., 1996, Mar, 686-8

#### Historia zmian dokumentu

Data zmiany	Sekcja	Opis zmiany
2021/07/01	Cały dokument	Dostosowanie do wymagań Rozporządzenia UE 2017/746

#### UWAGA

Historia zmian dokumentu nie uwzględnia zmian redakcyjnych.

SYMBOL	NAZWA SYMBOLU	OPIS	NR REF.
	Wytwórca	Oznacza wytwórcę wyrobu medycznego zgodnie z definicją zawartą w dyrektywach unijnych 90/385/EWG, 93/42/EWG oraz 98/79/WE.	5.1.1
	Data produkcji	Oznacza datę produkcji wyrobu medycznego.	5.1.3