

Copan SELENITE- Product Insert & How to Use Guide

ENGLISH

PI24A REV.01 2012.10

INTENDED USE

Copan Selenite Broth is an Enrichment selective broth for clinical specimens. It can be used for research of *Salmonella* spp in stool samples or others biological materials . **Copan Selenite Broth** can be used for processing with automated systems for planting and streaking on culture media plates (Copan WASP included).

REAGENTS

Copan Selenite Broth formulation per liter :

Peptone 5g
Lactose 4g
Phosphate sodium salt 10 g
Sodium selenite salt 4 g

PRECAUTIONS

1. Observe approved biohazard precautions and aseptic techniques.
2. To be used only by adequately trained and qualified personnel.
3. All specimens and materials used to process them should be considered potentially infectious and handled in a manner which prevents infection of laboratory personnel. Sterilize all biohazard waste including specimens, containers and media after their use. Observe other CDC Biosafety Level 2 recommendations.
4. Directions should be read and followed carefully.

STORAGE

This product is ready to use and no further preparation is necessary. The product has to be stored in its original container at 2-25°C until used. Do not overheat. Do not incubate or freeze prior to use. Improper storage will result in loss of efficacy. Do not use after expiration date, which is clearly printed on the outer box, on each individual kit and on the specimen transport tube label.

Copan Selenite Broth is supplied in boxes of 50 units individually packed and sterilize.

PRODUCT DETERIORATION

Do not use **Copan Selenite Broth** if: (1) the product shows visible marks of damage or contamination; (2) there is evidence of leakage; (3) the expiration date has passed; (4) there are other signs of deterioration.

MATERIALS SUPPLIED

Fifty (50) units are contained in a shelf pack and 6 x 50 units are contained in a box. Each unit consists of a sterile package containing a pre-labeled polypropylene screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 2 ml of Selenite Broth .

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

Appropriate materials for isolation and for bacteria culture. Refer to laboratory reference manuals for recommended protocols for culture and identification techniques.

Catalog No.	Copan Selenite Broth Product Descriptions	Pack Size	Suitable for Automation
475CE.A	2 ml of Selenite broth in 12X80 mm polypropylene screw-cap tube with internal conical shape	50 units per shelf pack 6x50 units per box	YES
475CE	2 ml of Selenite broth in 12X80 mm polypropylene screw-cap tube with internal conical shape	50 units per shelf pack 6x50 units per box	NO

INSTRUCTIONS FOR USE

Copan Selenite broth is used for the selective enrichment of *Salmonella* spp present in stool specimens or fecal samples collected by rectal swabbing. Copan Selenite is equipped with a special capture cap designed for use with Copan's regular size flock swabs. A rectal swab collected using a regular size flocked swabs, such as 552C, or transported using Copan FecalSwab Kit (470CE.A, 470CE) can be transferred into Copan Selenite Broth. The capture cap facilitates easy handling during planting and streaking in manual mode. In the case of 552C simply break the swab at the hemodend breakpoint inside the Selenite tube and close the cap; the swab will then remain attached to the cap. Alternatively a 502C or 552C flocked swab can be used for transferring approximately 0.2g of stool sample into Copan Selenite broth.

1. Unscrew the Selenite broth tube cap.
 - 2.. Add the specimen:
 - rectal swab: insert the swab in the tube and break it at the breaking point
 - feces sample: add about 0,2 g of stool by using a regular size flocked swab or a traditional paddle
- In order to have optimal medium performance the ratio between the medium and stool must be 10:1.
3. Replace the cap on the tube and screw the cap tightly.
 4. Write the patient or the specimen information on the tube label or apply patient/specimen identification label. Send immediately the specimen to the laboratory

SPECIMEN PROCESSING IN LABORATORY

PROCEDURE, MANUAL OPERATION

Samples collected in Selenite

- Vortex the Selenite tubes for 10sec.

Samples collected in FecalSwab

- Unscrew the Selenite broth tube cap.
 - Vortex the specimen FecalSwab tube for 10 sec.
 - Unscrew the FecalSwab tube cap and transfer the swab in the broth by using sterile forceps or alternatively transfer about 30µL of Cary-Blair medium by using a micropipette.
 - Re-cap the FecalSwab tube with the original cap
 - Re-cap the inoculated Selenite broth with the original cap.
 - Vortex the inoculated Selenite tubes for 10sec.
1. Incubate at 35°C ±2°C for 18-24 hours .
 2. After incubation , streak the sample on a surface of specific agar plate for isolation of *Salmonella* sp. The subculture of the specimen can be performed directly by using a swab or planting an aliquot of sample by an adequate instrument for liquid handling (micropipette, loop etc.) and following streaking on the plate. Plant at least 1µL of sample.
 3. Incubate the agar plates as per standard laboratory procedure.

SPECIMEN PROCESSING IN LABORATORY

PROCEDURE, AUTOMATIC OPERATION

The Selenite broth is manufactured in a container suitable to be processed by automatic system for planting and streaking (WASP). By using the WASP is possible to inoculate specimens collected by the FecalSwab system into the broth and to subculture the enriched Selenite broth sample.

BROTH INOCULATION BY THE WASP

1. Process the specimen collected in FecalSwab by a specific broth inoculation protocol by using the 30µL loop. Refer to the WASP User Manual for further information.
2. Examine the BHI broth tube for growth after 18-24 hours and, if negative, re-incubate for additional 24 hours.

SUBCULTURE OF THE ENRICHED SELENITE SAMPLE BY THE WASP

1. Process the enriched Selenite sample by a specific protocol for the streaking of an appropriate selective medium plate. The use of a 1 or 10µL loop and a multiple quadrant streaking pattern (3-4 Quadrants type) is suggested in order to improve the colonies isolation. It is recommended the laboratory to validate the streaking protocol. Refer to the WASP User Manual for further information.
2. Incubate the plates according to the standard laboratory procedure.

QUALITY CONTROL

The Copan Selenite Broth has been tested with the follow procedure :

PERFORMANCE TEST :

- From fresh culture of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium ATCC 14028, prepare a 0.5 Mac Farland in PBS.
- Prepare a serial dilution 10⁻⁵ of 0.5 Mac Farland
- Spike 100 µl of inoculum directly into Copan Selenite Broth
- Recap the tubes
- Vortex for 10 second at 2500 RPM
- Plate at time zero , 100 µl per dilution on a XLD agar plate.
- Incubate the tube at 35°C ±2°C for 24 hours .
- After incubation , plate 100 µl of Selenite broth , on a XLD agar plate for isolation of *Salmonella* .
- Incubate the agar plate as per standard laboratory procedure 35°C ±2°C for 24 hours.

Tine zero count should be 30-300 CFU/plate and the 24 hours time plate must show any grow.

INHIBITION TEST :

- From fresh culture of *E.coli* ATCC 25922, make a 0.5 Mac Farland in PBS.
- Prepare a serial dilution 10⁻¹ of 0.5 Mac Farland
- Spike 100 µl of inoculum directly into Copan Selenite Broth
- Recap the tubes
- Vortex for 10 second at 2500 RPM
- Plate at time zero , 100 µl per dilution on McConkey agar.
- Incubate at 35°C ±2°C for 24 hours .
- After incubation , plate 100 µl of Selenite broth , on a McConkey agar plate for isolation of *E.coli*
- Incubate the agar as per standard laboratory procedure

Tine zero count should show confluent grow and the 24 hours time plate must show partial to total inhibition.




Copan Italia S.p.A. Via Perotti, 10 - 25125 BRESCIA - Italy Tel.: +39 030 2687211 - Fax: +39 030 2687206 E-mail: info@copanitalia.com - Web site: www.copanitalia.com

Strains	Results cfu/plate Time Zero Average on 5 plates	Results cfu/plate Time 24 Hours Average on 5 plates
<i>Salmonella enterica</i> Serovar Typhimurium ATCC 14028	172	CONFLUENT GROW
<i>E.coli</i> ATCC 25922	CONFLUENT GROW	INIBITION
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 9290	202	CONFLUENT GROW

LIMITATIONS

- Condition, timing, and volume of specimen collected for culture are significant variables in obtaining reliable culture results. Follow recommended guidelines for specimen collection.
- Performance testing with Copan BHI broth was conducted using laboratory strains spiked into the BHI broth tube and not using human specimens.
- Proper specimen collection from the patient is extremely critical for successful isolation and identification of infectious organisms. For specific guidance regarding specimen collection procedures, consult published reference manuals. Specimens should be collected as soon as possible after the clinical onset of disease. Highest bacterial titres are present during the acute illness.
- Selenite broth is an enrichment selective broth for isolation of *Salmonella* spp. The product is not intended to maintain the viability of viruses and Chlamydia
- Stool specimens require special attention. They should be collected early in the course of the disease and need to be cultured within 2 hours of collection. Optimally, the specimen should be transferred to transport media soon after collection (such as Cary-Blair or Enteric Pathogen Transport for specimens, or Stuarts for swabs) to maintain the viability of the organisms. Specimens should never be refrigerated.
- In Selenite Broth without dulcitol, coliform growth is suppressed for the first 8-12 hours; longer incubation can lead to overgrowth by the mixed flora.

WARNINGS

- For *in vitro* diagnostic use.
-  This product is for single use only; reuse may cause a risk of inaccurate results.
- Not suitable for any other application than intended use.
- Work under a biological safety cabinet, wear gloves and other protection commensurate with universal precautions when handling clinical specimens.
- The use of this product in association with any diagnostic assay or with any diagnostic instrumentation should be validated by the user before using.
- Do not use if the product is visibly damaged.
- The medium is TOXIC.Do not ingest the medium.
- The manufacturer cannot be held responsible for any inappropriate or unqualified use of the product.
- All specimens considered infectious and must be handled with appropriate precautions.
- Copan Selenite broth is for in-vitro diagnostics use only and is in no way intended for curative or prophylactic purposes.
- Observe approved biohazard precautions and aseptic techniques. Product to be used only by adequately trained and qualified personnel.
- Directions should be read and followed carefully.
- Caution: This medium is toxic if swallowed, inhaled or comes into contact with the skin. Wear gloves and eye/face protection.

BIBLIOGRAPHY

- Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfäller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM, Washington, D.C..
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2004. Quality Control for commercially Prepared Microbiological Culture Media. Approved Standard – Third Edition M22-A3
- Miller, J. M. 1999. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Isenberg, H. D., 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Atlas, R.N.1993 Handbook of Microbiological Media p. 147-153. CRC Press, Boca Raton, FL

Copan SELENITE – Foglio illustrativo del prodotto & come usare la guida

ITALIANO

PI24A REV.01 2012.10

USO PREVISTO

Il **brodo Selenite della Copan** è un brodo selettivo di arricchimento per campioni clinici. Può essere usato per la ricerca di specie di Salmonella nei campioni di feci o in altri materiali biologici . Il **brodo Selenite della Copan** può essere usato per l'elaborazione con sistemi automatici (Copan WASP incluso), e per la coltura e la semina manuale su piastre di coltura.

REAGENTI

Formula del **Brodo Selenite della Copan**, per litro:

Peptona 5g
Lattosio 4g
Sale di sodio fosfato 10 g
Sale selenite di sodio 4 g

PRECAUZIONI

- Osservare opportune precauzioni contro i pericoli biologici e applicare tecniche asettiche.
- Può essere usato solo da personale opportunamente addestrato e qualificato.
- Tutti i campioni e i materiali usati per processare il campione devono essere ritenuti potenzialmente infettati e devono essere manipolati in modo da prevenire le infezioni del personale di laboratorio. Dopo l'uso sterilizzare tutti i rifiuti biologicamente pericolosi includendo i campioni, i contenitori e i terreni. Osservare le altre raccomandazioni CDC di sicurezza biologica di livello 2.
- Le istruzioni devono essere lette e seguite attentamente.

IMMAGAZZINAGGIO

Questo prodotto è pronto per l'uso, e non sono necessarie ulteriori operazioni di preparazione. Il prodotto deve essere conservato fino al momento dell'uso nel suo contenitore originale a 2-25°C. Non surriscaldare. Non incubare o congelare prima dell'uso. Un immagazzinaggio inappropriato può causare una perdita di efficacia. Non usare dopo la data di scadenza, che è stata stampata chiaramente sull'esterno della scatola, su ogni kit specifico e sull'etichetta del tubetto di trasporto del campione.

Il **brodo Selenite della Copan** viene fornito in scatole da 50 unità, imballate e sterilizzate individualmente.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO

Non usare il **brodo Selenite della Copan** se: (1) il prodotto mostra segni visibili di danni o di contaminazione; (2) ci sono indizi di perdite; (3) è stata superata la data di scadenza; (4) ci sono altri segni di deterioramento.

MATERIALI FORNITI

Cinquanta (50) unità sono contenute in una confezione commerciale e 6 x 50 unità sono contenute in uno scatolone. Ogni unità è costituita da un pacchetto sterile che contiene un tubo preetichettato di polipropilene con tappo a vite e fondo di forma conica, contenente 2 ml di brodo Selenite .

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Materiali appropriati per l'isolamento e per la coltura dei batteri. Consultare i manuali di riferimento di laboratorio per i protocolli raccomandati per le tecniche di coltura e di identificazione.

Numero di catalogo.	Brodo Selenite della Copan Descrizione del prodotto	Dimensioni della confezione	Adatto per l'automazione
475CE.A	2 ml di brodo Selenite in tubo di polipropilene da 12x80 con tappo a vite e forma interna conica	50 unità per confezione commerciale 6x50 unità per scatolone	SI
475CE	2 ml di brodo Selenite in tubo di polipropilene da 12x80 con tappo a vite e forma interna conica	50 unità per confezione commerciale 6x50 unità per scatolone	NO

ISTRUZIONI PER L'USO

Il **brodo Selenite della Copan** viene usato per l'**arricchimento selettivo delle speci di salmonella presenti in campioni fecali raccolti con o senza tampone rettale**. Il brodo **Selenite della Copan** è dotato di uno speciale tappo prensile, predisposto per essere usato con i tamponi cotonati di dimensioni regolari della Copan. Un tampone rettale raccolto usando tamponi cotonati di dimensioni regolari, come il 552C, o trasportato usando il Kit tampone rettale della Copan (450CE.A., 470CE) può essere trasferito nel brodo Selenite della Copan. Il tappo di cattura facilita la semplice manipolazione durante la semina e la coltura in modo manuale. Nel caso del 552C, basta rompere il tampone nel punto di rottura termofornato all'interno del tubo di selenite e chiudere il tappo; quindi il tampone resta agganciato al tappo. Come alternativa possono essere usati i tamponi cotonati 502C o 552C, per trasferire circa 0,2 g di campione fecale nel brodo selenite della Copan.

- Svitare il tappo del tubo di brodo Selenite.
 - Aggiungere il campione:
 - tampone rettale: inserire il tampone nel tubetto e romperlo presso il punto di rottura
 - campione fecale: aggiungere circa 0,2 g di feci usando un tampone floccato di dimensioni regolari o una palette tradizionale.
- Per ottenere le prestazioni ottimali del mezzo, il rapporto tra il mezzo e le feci deve essere uguale a 10:1.
- Riposizionare il tappo sul tubo e avvitarelo ermeticamente.
 - Scrivere le informazioni riguardanti il paziente o il campione sull'etichetta del tubetto o applicare l'etichetta di identificazione del paziente/campione. Inviare immediatamente il campione al laboratorio.

ELABORAZIONE DEL CAMPIONE IN LABORATORIO

PROCEDURA MANUALE

Campioni raccolti nel brodo Selenite

- Centrifugare i tubi di Selenite per 10 secondi.

Campioni raccolti con tampone fecale

- Svitare il tappo del tubo di brodo Selenite.
- Centrifugare il tubo di tampone fecale contenente il campione per 10 sec.
- Svitare il tappo del tubo di tampone fecale e trasferire il tampone al brodo, usando delle pinzette sterili; come alternativa, trasferire circa 30µl di mezzo Cary-Blair, usando una micropipetta.
- Ritappare il tubo del tampone fecale con il tappo originario.
- Ritappare il brodo di selenite inoculato con il tappo originale.

- Centrifugare i tubetti di brodo Selenite inoculato per 10 secondi.
- 1. Incubare a 35°C ±2°C per 18-24 ore .
- 2. Dopo l'incubazione, seminare il campione su una superficie di una piastra di agar specifica per l'isolamento di campioni di salmonella. La subcoltura del campione può essere effettuata direttamente usando un tampone o seminando una quantità determinata del campione con uno strumento adeguato per la manipolazione di liquidi (micropipetta, ansa, etc.), e seguendo la coltura sulla piastra. Seminare almeno 1µl di campione.
- 3. Incubare le piastre di agar secondo la procedura standard del laboratorio.

ELABORAZIONE DEL CAMPIONE IN LABORATORIO

PROCEDURA AUTOMATICA

Il brodo Selenite viene fabbricato in un contenitore adatto per essere elaborato dal sistema automatico per la semina e la coltura (WASP). Usando il sistema WASP è possibile inoculare i campioni raccolti dal sistema Tampone fecale nel brodo e subsoltivare il campione di brodo Selenite arricchito.

INOCULAZIONE DEL BRODO CON IL SISTEMA WASP

1. Elaborare il campione raccolto con il tampone fecale con un protocollo specifico di inoculazione del brodo usando un'ansa da 30µL. Per ulteriori informazioni, consultare il manuale utente del sistema WASP.
2. Esaminare il tubetto di brodo Selenite per studiarne la crescita dopo 18-24 ore e, in caso di risultato negativo, incubare nuovamente per ulteriori 24 ore.

SUBCOLTURA DEL CAMPIONE DI BRODO ARRICCHITO SELENITE CON IL SISTEMA WASP

1. Elaborare il campione Selenite arricchito seguendo un protocollo specifico per la coltura di una piastra adatta di mezzo selettivo. Per migliorare l'isolamento delle colonie, si raccomanda l'uso di un'ansa da 1 o 10µL e una semina multi quadrante (3-4 quadranti). Si raccomanda al laboratorio di validare il protocollo di semina. Per ulteriori informazioni, consultare il manuale utente del sistema WASP.
2. Incubare le piastre, come indicato nella procedura standard di laboratorio.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il brodo Selenite della Copan è stato testato con la seguente procedura:

PROVA DELLE PRESTAZIONI :

- Da una coltura fresca di *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium ATCC 14028, preparare uno 0.5 Mac Farland in PBS.
- Preparare una diluizione in serie 10⁻⁵ di 0,5 Mac Farland.
- Versare 100 ul di inoculo direttamente nel brodo Selenite della Copan.
- Ritappare il tubo.
- Centrifugare per 10 secondi a 2500 giri al minuto.
- Al tempo zero collocare 100 ul per diluizione su una piastra di agar XLD.
- Incubare il tubetto a 35°C ±2°C per 24 ore.
- Dopo l'incubazione, collocare 100 ul di brodo Selenite su una piastra di agar XLD per l'isolamento della *Salmonella* .
- Incubare la piastra di agar come previsto nel procedimento standard di laboratorio, a 35°C ±2°C per 24 ore.

Il conteggio al tempo zero deve essere 30-300 CFU/piastra e la piastra dopo un periodo di 24 ore deve mostrare crescita.

PROVA DELL'INIBIZIONE :

- Da una coltura fresca di *E.coli* ATCC 25922, preparare 0,5 Mac Farland in PBS.
- Preparare una diluizione in serie 10⁻¹ di 0,5 Mac Farland.
- Versare 100 ul di inoculo direttamente nel brodo Selenite della Copan.
- Ritappare i tubetti.
- Centrifugare per 10 secondi a 2500 giri al minuto.
- Al tempo zero, collocare 100 ul per diluizione su una piastra di agar McConkey.
- Incubare a 35°C ±2°C per 24 ore.
- Dopo l'incubazione, collocare 100 ul di brodo Selenite su una piastra di agar McConkey per l'isolamento dell' *E.coli*.
- Incubare la piastra di agar secondo la procedura standard del laboratorio.


Il conteggio al tempo zero deve mostrare una crescita confluyente e la piastra dopo un periodo di 24 ore deve mostrare un'inibizione parziale o completa.

Ceppi	Risultati cfu/piastra tempo zero Media su 5 piastre	Risultati cfu/piastra tempo 24 ore Media su 5 piastre
<i>Salmonella enterica</i> Serovar Typhimurium ATCC 14028	172	CRESCITA CONFLUENTE
<i>E.coli</i> ATCC 25922	CRESCITA CONFLUENTE	INIBIZIONE
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 9290	202	CRESCITA CONFLUENTE

LIMITI

1. Le condizioni, il tempo e il volume del campione raccolto per la coltura sono variabili significative per l'ottenimento di risultati di coltura affidabili. Seguire le linee guida raccomandate per la raccolta dei campioni.
2. Le prove delle prestazioni con il brodo Selenite della Copan sono state effettuate usando ceppi di laboratorio versati nel tubetto di brodo Selenite e non usando campioni umani.
3. Una raccolta adeguata dei campioni dal paziente è un fattore estremamente critico per l'isolamento e l'identificazione di successo degli organismi infettivi. Per una guida specifica riguardante i procedimenti di raccolta dei campioni, consultare i manuali di riferimento pubblicati. I campioni devono essere raccolti il più presto possibile dopo l'insorgenza clinica della malattia. Concentrazioni batteriche più alte sono presenti durante la fase acuta della patologia.
4. Il brodo Selenite è un brodo selettivo arricchito per l'isolamento dei campioni di *Salmonella* . Il prodotto non è stato ideato per mantenere la viabilità di virus e Chlamydia.
5. I campioni fecali richiedono un'attenzione particolare. Essi devono essere prelevati presto nel corso della malattia e devono essere coltivati entro 2 ore dal prelievo. Nelle condizioni ottimali, il campione deve essere trasferito nel mezzo di trasporto immediatamente dopo il prelievo (come il Cary-Blair o il Trasporto patogeno enterico per i campioni, o lo Stuarts per i tamponi) per mantenere la viabilità degli organismi. I campioni non devono mai essere refrigerati.
6. Nel brodo Selenite senza dulcitol, la crescita coliforme è soppressa durante le prime 8-12 ore; un'incubazione più lunga può portare alla crescita eccessiva della flora mista.

AVVERTENZE

1. Per uso diagnostico *in vitro*.
2.  Il presente prodotto è ideato per un uso singolo; il suo riutilizzo può causare il rischio di risultati inattendibili.
3. Non adatto per qualsiasi altra applicazione che non sia il suo uso previsto.
4. Lavorare in una cabina di sicurezza biologica, indossare i guanti e altre protezioni proporzionali alle precauzioni riconosciute universalmente per la manipolazione di campioni clinici.
5. L'utilizzo del presente prodotto insieme a qualsiasi test diagnostico o con qualsiasi strumento diagnostico deve essere valutato dall'utente prima dell'uso.
6. Non utilizzare il prodotto se è visibilmente danneggiato.
7. Il mezzo è TOSSICO. Non ingerire il mezzo.
8. Il fabbricante non può essere ritenuto responsabile per qualsiasi uso inadeguato o non qualificato del prodotto.
9. Tutti i campioni sono ritenuti infettivi e devono essere manipolati con precauzioni adeguate.
10. Il brodo Selenite della Copan è destinato solo all'uso diagnostico in vitro e in nessun caso è permesso il suo uso a scopi terapeutici o profilattici.
11. Osservare opportune precauzioni contro i pericoli biologici e applicare tecniche asettiche. Il prodotto può essere usato solo da personale opportunamente addestrato e qualificato.
12. Le istruzioni devono essere lette e seguite attentamente.
13. Attenzione: Il mezzo è tossico se ingerito, inalato o in caso di contatto con la pelle. Indossare i guanti e usare una protezione per gli occhi/il viso.

BIBLIOGRAFIA

- Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM, Washington, D.C..
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2004. Quality Control for commercially Prepared Microbiological Culture Media. Approved Standard – Third Edition M22-A3
- Miller, J. M. 1999. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Isenberg, H. D., 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Atlas, R.N.1993 Handbook of Microbiological Media p. 147-153. CRC Press, Boca Raton, FL

Copan SELENIT – Beipackzettel und Gebrauchsanweisung

DEUTSCH

PI24A REV.01 2012.10

ANWENDUNG

Die **Selenit-Brühe von Copan** ist eine selektive Anreicherungsbrühe für klinische Proben. Sie kann für die Ermittlung von Salmonellen-Stämmen in Stuhl- oder anderen biologischen Materialproben verwendet werden. Die **Selenit-Brühe von Copan** kann für die Ausarbeitung mit automatischen Systemen und für die Aussaat auf Kulturschalen (einschließlich Copan *WASP*) benutzt werden.

REAGENZIEN

Formel der **Selenit-Brühe von Copan** pro Liter:

Pepton 5 g
Laktose 4 g
Natriumphosphatsalz 10 g
Natriumselenitsalz 4 g

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Entsprechende Vorsichtsmaßnahmen gegen biologische Gefahren treffen und aseptische Techniken anwenden.
2. Es darf nur von entsprechend geschultem und qualifiziertem Personal angewendet werden.
3. Alle Proben und alles verwendete Material sind als potentiell infektiös zu behandeln und müssen so gehandhabt werden, dass eine Ansteckung des Laborpersonals ausgeschlossen ist. Nach dem Gebrauch alle Abfälle, einschließlich Proben, Behälter und Transportmedien, die eine biologische Gefährdung darstellen könnten, sterilisieren. Die restlichen Vorschriften der CDC, Stufe 2 für Biosicherheit beachten.
4. Die Anweisungen genau lesen und befolgen.

AUFBEWAHRUNG

Dieses Produkt ist gebrauchsfertig und erfordert daher keinerlei zusätzliche Zubereitung. Das Produkt muss bis zum Gebrauch in seiner Originalverpackung bei 2 - 25°C aufbewahrt werden. Nicht überhitzen! Nicht vor dem Gebrauch inkubieren oder einfrieren! Durch eine unsachgemäße Einlagerung kann die Wirksamkeit verloren gehen. Nicht nach dem Verfalldatum verwenden, das deutlich an der Außenseite der Schachtel, auf jedem spezifischen Set und auf dem Etikett des Röhrchens für den Probenstransport aufgedruckt ist.

Die **Selenit-Brühe von Copan** ist in Schachteln mit 50 einzeln verpackten und sterilisierten Einheiten erhältlich.

VERFALL DES PRODUKTS

Die **Selenit-Brühe von Copan** nicht verwenden, wenn: (1) das Produkt sichtbar beschädigt oder verschmutzt ist, (2) das Produkt sichtbar undicht ist, (3) das Verfallsdatum abgelaufen ist oder (4) andere Anzeichen von Verschleiß sichtbar sind.

BENÖTIGTES MATERIAL, DASS ENTHALTEN IST:

Eine Packung enthält fünfzig (50) Einheiten, eine Schachtel hingegen 6 x 50 Einheiten. Jede Einheit besteht aus einer sterilen Packung, die ein voretikettiertes PP-Röhrchen mit Schraubverschluss und konischem Boden enthält, das mit 2 ml Selenit-Brühe gefüllt ist.

BENÖTIGTES MATERIAL, DAS NICHT ENTHALTEN IST

Geeignetes Material für die Isolierung und Kultivierung von Bakterien. Für die empfohlenen Protokolle in Bezug auf die Kultivierungs- und Identifizierungstechniken wird auf die Labor-Referenzhandbücher verwiesen.

Katalognummer	Selenit-Brühe von Copan Beschreibung des Produkts	Größe der Verpackung	Geeignet für automatische Systeme
475CE.A	2 ml Selenit-Brühe in 12x80 PP-Röhrchen mit Schraubverschluss, konischer Innenform	50 Einheiten pro Verkaufspackung 6x50 Einheiten pro Karton	JA
475CE	2 ml Selenit-Brühe in 12x80 PP-Röhrchen mit Schraubverschluss, konischer Innenform	50 Einheiten pro Verkaufspackung 6x50 Einheiten pro Karton	NEIN

GEBRAUCHSANWEISUNG

Die **Selenit-Brühe von Copan** wird zur **selektiven Anreicherung von Salmonellen-Stämmen in Stuhlproben** verwendet, die mit oder ohne Rektalabstrich entnommen wurden. Die Brühe **Selenit von Copan** ist mit einem speziellen Aufnahme- und Transportdeckel ausgestattet, der mit regulären Baumwolltupfern von Copan verwendet werden kann. Ein Rektalabstrich, der mit normalen Baumwolltupfern (z.B. 552C) entnommen wurde, oder mit dem Rektalabstrich von Copan (450CE.A., 470CE) transportiert wurde, kann in die Selenit-Brühe von Copan übertragen werden. Der Aufnahme- und Transportdeckel fördert die einfache Handhabung während der manuellen Aussaat und Kultivierung. Der Tupfer 552C wird an der wärmegeformten Bruchstelle im Selenit-Röhrchen abgebrochen und der Deckel verschlossen. Dadurch bleibt der Tupfer am Deckel befestigt. Als Alternative können die Baumwolltupfer 502C oder 552C verwendet werden, um ungefähr 0,2 g Stuhlprobe in die Selenit-Brühe von Copan zu übertragen.

- Den Verschluss des Röhrchens mit der Selenit-Brühe aufschrauben.
 - Hinzufügen der Probe:
 - Rektalabstrich: Den Tupfer in das Röhrchen stecken und an der Bruchstelle abbrechen.
 - Stuhlprobe: Mit einem normalen Baumwolltupfer oder einer handelsüblichen Spatel ungefähr 0,2 g Stuhl hinzufügen.
- Für die optimalen Leistungen des Mediums muss das Verhältnis zwischen Medium und Stuhl 10:1 betragen.
- Den Deckel auf dem Röhrchen auswechseln und hermetisch festschrauben.
 - Die Angaben über den Patienten oder die Probe auf das Etikett des Röhrchens schreiben bzw. das Etikett mit den Patienten-/Probandendaten befestigen. Die Probe sofort an das Labor senden.

AUSARBEITUNG DER PROBE IM LABOR

MANUELLES VERFAHREN

Entnommene Proben in der Selenit-Brühe

- Die Selenit-Röhrchen 10 Sekunden zentrifugieren.

Entnommene Proben mit Stuhltupfer

- Den Verschluss des Röhrchens mit der Selenit-Brühe aufschrauben.
 - Das Stuhltupfer-Röhrchen mit der Probe 10 Sekunden zentrifugieren.
 - Den Deckel des Stuhltupfer-Röhrchens aufschrauben und den Tupfer mit sterilen Pinzetten in die Brühe übertragen. Es sind aber auch ungefähr 30 µl Cary-Blair-Transportmedium mit einer Mikropipette übertragbar.
 - Das Röhrchen des Stuhltupfers mit dem Originaldeckel wieder verschließen.
 - Auch die inokulierte Selenit-Brühe mit dem Originaldeckel wieder verschließen.
 - Die inokulierten Selenitbrühen-Röhrchen 10 Sekunden zentrifugieren und
- 18 - 24 Stunden bei 35°C ± 2°C inkubieren.
 - Nach der Inkubierung die Probe für die Isolierung von Salmonellen-Proben auf einer spezifischen Kulturschale aussäen. Die Probe kann mit einem Tupfer subkultiviert werden. Es kann aber auch eine bestimmte Menge der Probe mit einem geeigneten Instrument für die Handhabung von Flüssigkeiten (Mikropipette, Stab usw.) ausgesät und auf der Schale kultiviert werden. Mindestens 1 µl der Probe aussäen.
 - Die Kulturschalen nach dem Standardlaborverfahren inkubieren.

AUSARBEITUNG DER PROBE IM LABOR

AUTOMATISCHES VERFAHREN

Die **Selenit-Brühe** wird in einem geeigneten Behälter für die Ausarbeitung mit dem automatischen Aussaat- und Kultivierungssystem (**WASP**) hergestellt. Mit dem **WASP-System** können die mit dem Stuhltupfer gesammelten Proben in der Brühe inokuliert und die angereicherte Selenit-Brühenprobe subkultiviert werden.

INOKULIERUNG DER BRÜHE MIT DEM WASP-SYSTEM

- Die mit dem Stuhltupfer gesammelte Probe mittels eines spezifischen Inokulationsprotokolls der Brühe ausarbeiten, wofür ein 30µL-Stab verwendet wird. Für weitere Informationen wird auf das Benutzerhandbuch des WASP-Systems verwiesen.
- Das Selenit-Brühenröhrchen überprüfen, um das Wachstum nach 18 - 24 Stunden festzustellen. Bei einem negativen Ergebnis muss die Brühe weitere 24 Stunden inkubiert werden.

SUBKULTIVIERUNG DER MIT DEM WASP-SYSTEM ANGEREICHERTEN SELENIT-BRÜHENPROBE

- Die angereicherte Selenit-Brühe nach einem spezifischen Protokoll für die Kultivierung einer Schale ausarbeiten, die sich für selektive Medien eignet. Für eine bessere Isolierung der Stämme wird eine 1 oder 10µL Stab und eine mehrseitige Aussaat (3 - 4 Seiten) empfohlen. Das Labor muss danach das Aussaatprotokoll validieren. Für weitere Informationen wird auf das Benutzerhandbuch des WASP-Systems verwiesen.
- Die Platten gemäß den Standardlaborverfahren inkubieren.

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Selenit-Brühe von Copan wurde nach dem folgenden Verfahren getestet:

LEISTUNGSTEST:

- Mit einer frischen *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium ATCC 14028 Kultur wird eine 0,5 Mac Farland-Suspension in PBS vorbereitet.
- Eine serielle Verdünnung 10 der Suspension 0,5 Mc Farland vorbereiten.
- 100 µl Inokulation direkt in die Selenit-Brühe von Copan schütten.
- Das Röhrchen wieder verschließen.
- Das ganze für 10 Sekunden bei 2.500 U/min zentrifugieren.
- Bei Zeit Null für die Verdünnung 100 µl auf eine XLD Kulturschale geben.
- Das Röhrchen für 24 Stunden bei 35°C ± 2°C inkubieren.
- Nach der Inkubierung 100 µl Selenit-Brühe für die Isolierung der *Salmonella* auf eine XLD Kulturschale geben.
- Die Kulturschale gemäß dem Laborstandardverfahren für 24 Stunden bei 35°C ± 2°C inkubieren.

Die Zählung bei Zeit Null sollte 30-300 CFU/Kulturschale ergeben und das Wachstum innerhalb von 24 Stunden in der Kulturschale ein beliebiges Wachstum zeigen.

INHIBITIONSTEST:

- Mit einer frischen *E.coli* ATCC 25922 Kultur wird eine 0,5 Mac Farland-Suspension in PBS vorbereitet.
- Eine serielle Verdünnung 10 der Suspension 0,5 Mc Farland vorbereiten.
- 100 µl Inokulation direkt in die Selenit-Brühe von Copan schütten.
- Die Röhrchen wieder verschließen.
- Das ganze für 10 Sekunden bei 2.500 U/min zentrifugieren.
- Bei Zeit Null für die Verdünnung 100 µl auf eine McConkey Kulturschale geben.
- 24 Stunden bei 35°C ± 2°C inkubieren.
- Nach der Inkubierung 100 µl Selenit-Brühe für die Isolierung der *E.coli* auf eine McConkey Kulturschale geben.
- Die Kulturschale nach dem Standardlaborverfahren inkubieren.

Die Zählung bei Zeit Null sollte ein konfluierendes Wachstum und die Kulturschale nach 24 Stunden eine partielle oder komplette Inhibition zeigen.

Stämme	Ergebnisse cfu/Schale bei Zeit Null Durchschnittswert auf 5 Platten	Ergebnisse cfu/Schale nach 24 Stunden Durchschnittswert auf 5 Platten
<i>Salmonella enterica</i> Serovar Typhimurium ATCC 14028	172	KONFLUENTES WACHSTUM
<i>E.coli</i> ATCC 25922	KONFLUENTES WACHSTUM	INHIBITION
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 9290	202	KONFLUENTES WACHSTUM


GRENZWERTE

- Der Zustand, die Transportzeit und der Umfang der entnommenen Probe sind Faktoren, welche die Zuverlässigkeit des Untersuchungsergebnisses stark beeinflussen. Die empfohlenen Richtlinien für die Entnahme der Proben befolgen.
- Die Leistungsproben mit der BHI-Brühe von Copan wurden mit nicht mit klinischen Proben, sondern mit Laborbakterienstämmen durchgeführt, die in das Röhrchen der BHI-Brühe geschüttet wurden.
- Eine angemessene Sammlung der Proben am Patienten ist ein sehr kritischer Faktor bei der erfolgreichen Isolierung und Identifizierung infektiöser Organismen. Für spezifische Anleitung in Bezug auf das Entnahmeverfahren der Proben wird auf die veröffentlichten Handbücher verwiesen. Die Proben dürfen frühestens nach dem klinischen Auftreten der Krankheit entnommen werden. Höhere Bakterienkonzentrationen können während der akuten Krankheitsphase auftreten.
- Die Selenit-Brühe ist eine angereicherte selektive Brühe für die Isolierung von *Salmonella*-Proben. Das Produkt ist nicht für die Erhaltung von Viren und Chlamydien gedacht.
- Für Stuhlproben ist besondere Vorsicht geboten. Sie müssen möglichst am Beginn der Krankheit entnommen und innerhalb von 2 Stunden nach der Entnahme kultiviert werden. Unter optimalen Bedingungen muss die Probe sofort nach der Entnahme in das Transportmedium (wie Cary-Blair-Transportmedien, Transport von enterischen Krankheitserregern oder Stuarts für Tupfer) oder das übertragen werden, um die Organismen am Leben zu erhalten. Die Proben dürfen niemals eingefroren werden.
- In der Selenit-Brühe ohne Dulcitol wird das Wachstum coliformer Bakterien während den ersten 8 bis 12 Stunden unterdrückt. Eine längere Inkubierung kann zu einem übermäßigen Wachstum der Mischflora führen.

- HINWEISE
1.

Für die In-vitro-Diagnose.

2.

 Dieses Produkt ist für die einmalige Anwendung gedacht. Bei Wiederverwendung können unzuverlässige Ergebnisse auftreten.

3.

Nicht geeignet für andere Zwecke, die nicht der vorgesehenen Anwendung entsprechen.

4.

Die Arbeiten in einer biologischen Sicherheitskabine durchführen. Handschuhe und sonstige Schutzmaßnahmen als allgemein anerkannte Vorsichtsmaßnahmen für die Handtierung von klinischen Proben anziehen.

5.

Die Anwendungseignung dieses Produkts für irgendwelche Schnelldiagnosesets oder Diagnoseinstrumenten muss vor der Anwendung vom Benutzer geprüft werden.

6.

Das Produkt bei sichtbaren Beschädigungen nicht benutzen.

7.

Das Medium ist GIFTIG. Das Medium nicht verschlucken.

8.

Der Hersteller kann nicht für einen unsachgemäßen oder nicht korrekten Gebrauch des Produkts verantwortlich gemacht werden.

9.

Alle Proben gelten als infektiös und sind mit angemessenen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln.

10.

Die Selenit-Brühe von Copan ist nur für die In-Vitro-Diagnose bestimmt und darf keinesfalls für therapeutische oder Schutzbehandlungen verwendet werden.

11.

Entsprechende Vorsichtsmaßnahmen gegen biologische Gefahren treffen und aseptische Techniken anwenden. Das Produkt darf nur von entsprechend geschultem und qualifiziertem Personal angewendet werden.

12.

Die Anweisungen genau lesen und befolgen.

13.

Achtung: Das Medium ist bei Einnahme, Einatmung oder bei Hautkontakt giftig. Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz verwenden.

BIBLIOGRAPHIE

Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM, Washington, D.C..

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2004. Quality Control for commercially Prepared Microbiological Culture Media. Approved Standard – Third Edition M22-A3

Miller, J. M. 1999. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology, 2nd ed. ASM, Washington, DC.

Isenberg, H. D., 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. ASM, Washington, DC.

Atlas, R.N.1993 Handbook of Microbiological Media p. 147-153. CRC Press, Boca Raton, FL

Copan SELENITE – Notice du produit & guide d’utilisation

FRANÇAIS

PI24A REV.01 2012.10

EMPLOI PRÉVU

Le bouillon Selenite de Copan est un bouillon sélectif d'enrichissement pour échantillons cliniques. On peut l'utiliser pour rechercher la Salmonelle dans les échantillons de selles ou d'autres matériaux biologiques. Le bouillon Selenite de Copan peut être utilisé pour le traitement avec des systèmes automatiques, la culture et l'ensemencement sur des plaques de milieu de culture (Copan WASP inclus).

RÉACTIFS

Formule de Bouillon Selenite de Copan, par litre :

Peptone 5g

Lactose 4g

Sel de sodium du phosphate 10 g

Sel sélénite de sodium 4 g

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

1.

Suivre les précautions approuvées relatives à la période biologique ainsi que les techniques aseptiques.

2.

L'emploi doit être limité au personnel formé et qualifié comme il se doit.

3.

Tous les échantillons et les matériels utilisés pour analyser le produit doivent être considérés potentiellement infectés et doivent donc être gérés de sorte à éviter le risque d'infection du personnel de laboratoire. Après l'emploi, stériliser tous les déchets dangereux biologiquement y compris les échantillons, les conteneurs et les terrains de transport. S'en tenir aux autres dispositions de Niveau 2 établies par le CDC.

4.

S'en tenir rigoureusement aux instructions.

CONSERVATION

Ce produit est prêt à l'emploi et ne requiert pas d'autres préparations. Il faut le conserver dans son emballage d'origine à 2-25°C jusqu'au moment de l'utilisation. Ne pas surchauffer. Ne pas incuber ou congeler avant l'emploi. Une conservation inappropriée diminue l'efficacité du produit. Ne pas utiliser après la date d'expiration indiquée sur l'emballage externe, sur chaque kit et sur l'étiquette du tube à essai de transport.

Le bouillon Selenite de Copan est fourni dans un emballage contenant 50 unités dont chacune est emballée individuellement et stérile.

DÉTÉRIORATION DU PRODUIT

Ne pas utiliser le bouillon Selenite de Copan si : (1) le produit présente des signes visibles d'endommagements ou de contamination ; (2) le produit présente des signes visibles de fuites, (3) la date d'expiration est échuë, (4) en présence d'autres signes de détérioration.

CONTENU DU KIT

Le produit est fourni dans des boîtes de cinquante (50) unités, tandis que chaque carton en contient 6 x 50. Chaque unité comprend : un tube pré-étiqueté de polypropylène à bouchon à vis, à forme interne conique, contenant 2 ml de bouillon Selenite.

MATÉRIELS NÉCESSAIRES NON COMPRIS DANS LE KIT

Le kit ne comprend pas les matériels pour l'isolation et la culture des bactéries. Pour les protocoles relatifs aux techniques de culture et d'identification des bactéries à partir des échantillons cliniques, se reporter aux manuels de laboratoire.

Número de catalogue	Bouillon Selenite de Copan Description du produit	Emballage	Utilisable avec les automations
475CE.A	2 ml de bouillon Selenite en tube de polypropylène de 12x80 avec bouchon à vis et forme interne conique	50 unités par boîte 6x50 unités par carton	OUI
475CE	2 ml de bouillon Selenite en tube de polypropylène de 12x80 avec bouchon à vis et forme interne conique	50 unités par boîte 6x50 unités par carton	NON

INSTRUCTIONS D'EMPLOI

Le bouillon Selenite de Copan est utilisé pour l'enrichissement sélectif des espèces de Salmonelle présentes dans les échantillons de selles collectés avec ou sans écouvillon rectal. Le bouillon Selenite de Copan est pourvu d'un bouchon spécial de capture, prédisposé pour être utilisé avec les écouvillons floqués de taille régulière de Copan. Un écouvillon rectal collecté en utilisant des écouvillons cotonnés de taille régulière, comme le 552C, ou transporté à l'aide du Kit écouvillon rectal de Copan (450CE.A, 470CE) peut être transféré dans le bouillon Selenite de Copan. Le bouchon de capture facilite la manipulation manuelle pendant l'ensemencement et la culture. Si on utilise le produit 552C, il suffit de casser l'écouvillon au niveau du point de rupture thermofonné à l'intérieur du tube de Selenite, remettre ensuite le bouchon ; l'écouvillon reste alors accroché au bouchon. On peut également utiliser les écouvillons floqués 502C ou 552C, pour transférer environ 0,2 g d'échantillon fécal dans le bouillon Selenite de Copan.

1.

Desserrer le bouchon du tube de bouillon Selenite.
- 2..

Ajouter l'échantillon :

écouvillon rectal : insérer l'écouvillon dans le tube et le casser au niveau du point de rupture

échantillon fécal : ajouter 0,2 g de selles à l'aide d'un écouvillon cotonné de taille régulière ou d'une palette traditionnelle.
3.

Pour obtenir les prestations optimales du milieu, le rapport entre le milieu et les selles doit être égal à 10:1.
4.

Remplacer le bouchon sur le tube et le serrer hermétiquement.
- Ecrire les données du patient (ou de l'échantillon) sur l'étiquette du tube ou coller une étiquette d'identification du patient ou de l'échantillon. Envoyer immédiatement l'échantillon au laboratoire.

TRAITEMENT DE L'ÉCHANTILLON EN LABORATOIRE

PROCÉDURE MANUELLE

Echantillons collectés dans le bouillon Selenite

- Centrifuger les tubes de Selenite pendant 10 secondes.

Echantillons collectés avec un écouvillon fécal

- Desserrer le bouchon du tube de bouillon Selenite.
- Centrifuger pendant 10 sec le tube de l'écouvillon fécal contenant l'échantillon.
- Desserrer le bouchon du tube de l'écouvillon fécal et transférer l'écouvillon dans le bouillon à l'aide de pinces stériles ; on peut également transférer environ 30µl de milieu Cary-Blair, à l'aide d'une micropipette.
- Reboucher le tube de l'écouvillon fécal avec son bouchon d'origine.
- Reboucher le tube de bouillon Selenite inoculé avec son bouchon d'origine.
- Centrifuger le tube de bouillon Selenite inoculé pendant 10 secondes.

1.

Incuber à 35°C ±2°C pendant 18-24 heures.

2.

Après l'incubation, ensemençer l'échantillon sur une plaque Agar spécifique pour l'isolation d'échantillons de Salmonelle. La subculture de l'échantillon peut être effectuée directement en utilisant un écouvillon ou en ensemençant une quantité donnée de l'échantillon avec un outil approprié pour la manipulation des liquides (micropipette, ôse, etc.) et en suivant la culture sur la plaque. Ensemençer au moins 1µl d'échantillon.

3.

Incuber les plaques Agar selon la procédure standard de laboratoire.

TRAITEMENT DE L'ÉCHANTILLON EN LABORATOIRE

PROCÉDURE AUTOMATIQUE

Le bouillon Selenite est fabriqué dans un conteneur approprié pour être traité avec le système automatique d'ensemencement et de culture (WASP). La WASP permet d'inoculer les échantillons collectés par le système d'écouvillon fécal dans le bouillon et de subcultiver l'échantillon de bouillon Selenite enrichi.

INOCULATION DU BOUILLON AVEC LE SYSTÈME WASP

1.

Traiter le bouillon collecté avec l'écouvillon fécal à travers un protocole spécifique d'inoculation du bouillon à l'aide d'une ôse de 30µL. Pour plus d'informations, consulter le manuel d'utilisation du système WASP.

2.

Examiner le tube de bouillon Selenite pour étudier la croissance après 18-24 heures et, en cas de résultat négatif, incuber encore pendant 24 heures.

SUBCULTURE DE L'ÉCHANTILLON DE BOUILLON ENRICHI AVEC LE SYSTÈME WASP

1.

Traiter l'échantillon Selenite enrichi en suivant un protocole spécifique d'ensemencement d'une plaque appropriée de milieu sélectif. Pour améliorer l'isolation des colonies, il est recommandé d'utiliser une ôse de 1 ou 10µL et un schéma d'ensemencement à quadrant multiple (type à 3-4 quadrants). Le laboratoire doit valider le protocole d'ensemencement. Pour plus d'informations, consulter le manuel d'utilisation du système WASP.

2.

Incuber les plaques, comme indiqué dans la procédure standard de laboratoire.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Le bouillon Selenite de Copan a été testé avec la procédure suivante :

ESSAI DES PERFORMANCES :

- A partir d'une culture fraîche de *Salmonelle enterique* SerovarTyphimurium ATCC 14028, préparer un 0.5 Mac Farland en PBS.
 - Préparer une dilution en série 10⁻⁵ de 0.5 Mac Farland.
 - Verser 100 ul d'inoculum directement dans le bouillon Selenite de Copan.
 - Remettre le bouchon sur le tube.
 - Centrifuger pendant 10 secondes à 2500 tours/min.
 - Au temps zéro, mettre 100 ul pour dilution sur une plaque agar XLD.
 - Incuber le tube à 35°C ±2°C pendant 24 heures.
 - Après l'incubation, mettre 100 ul de bouillon Selenite sur une plaque Agar XLD pour l'isolation de la *Salmonelle*.
 - Incuber la plaque agar tel que prévu dans la procédure standard de laboratoire, 35°C ±2°C pendant 24 heures.
- Le comptage du temps zéro doit être 30-300 CFU/plaque et la plaque doit montrer une croissance quelconque après 24 heures.

ESSAI DE L'INHIBITION :

- A partir d'une culture fraîche de *E.coli* ATCC 25922, préparer un 0.5 Mac Farland en PBS.
 - Préparer une dilution en série 10⁻¹ de 0.5 Mac Farland.
 - Verser 100 ul d'inoculum directement dans le bouillon Selenite de Copan.
 - Remettre le bouchon sur le tube.
 - Centrifuger pendant 10 secondes à 2500 tours/min.
 - Au temps zéro, mettre 100 ul pour dilution sur une plaque agar McConkey.
 - Incuber à 35°C ±2°C pendant 24 heures.
 - Après l'incubation, mettre 100 ul de bouillon Selenite sur une plaque agar McConkey pour l'isolation de l'*E.coli*.
 - Incuber la plaque agar tel que prévu dans la procédure standard de laboratoire.
- Le comptage du temps zéro doit montrer une croissance confluyente et la plaque, après 24 heures, doit montrer une inhibition partielle ou complète.

Souches	Résultats cfu/plaque temps zéro Moyenne sur 5 plaques	Résultats cfu/plaque temps 24 heures Moyenne sur 5 plaques
<i>Salmonella enterica</i> Serovar Typhimurium ATCC 14028	172	CROISSANCE CONFLUENTE
<i>E.coli</i> ATCC 25922	CROISSANCE CONFLUENTE	INHIBITION
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 9290	202	CROISSANCE CONFLUENTE

RESTRICTIONS

- Les conditions, le temps et le volume de l'échantillon collecté pour la culture sont des variables significatives pour l'obtention de résultats de culture fiables. Suivre les prescriptions recommandées pour la collecte des échantillons
- Les essais des performances avec le bouillon Selenite de Copan ont été effectués en utilisant des souches de laboratoire versées dans le tube de bouillon Selenite et non pas avec des échantillons humains.
- Une collecte adéquate des échantillons du patient est un facteur extrêmement critique pour l'isolation et l'identification des organismes infectieux. Pour avoir des instructions plus détaillées sur les procédures de collecte, consulter les manuels de référence publiés à ce sujet. Les échantillons doivent être collectés le plus tôt possible après l'apparition clinique de la maladie car des concentrations bactériennes plus élevées sont présentes pendant la phase aiguë de la pathologie.
- Le bouillon Selenite** est un bouillon sélectif enrichi pour l'isolation des échantillons de *Salmonelle*. Le produit n'a pas été conçu pour maintenir la viabilité du virus et de la Chlamydia.
- Les échantillons de selles requièrent un soin particulier. Il faut les prélever dès le début de la maladie et les cultiver dans les 2 heures à compter du prélèvement. En conditions optimales, l'échantillon doit être transféré dans le milieu de transport immédiatement après le prélèvement (comme le Cary-Blair ou le Transport pathogène des échantillons ou le Stuarts pour les tampons) pour maintenir la viabilité des organismes. Les échantillons ne doivent jamais être réfrigérés.
- Dans le bouillon Selenite sans dulcitol, la croissance des coliformes est annulée pendant les 8-12 premières heures ; une incubation plus longue peut entraîner la croissance excessive de la flore mixte.

AVERTISSEMENTS

- Pour emploi diagnostic *en vitro*.
- ⓧ Le présent produit a été conçu pour une seule utilisation ; sa réutilisation peut causer des résultats peu fiables.
- N'est pas approprié pour une application différente de celle prévue.
- Travailler dans un cabinet de sécurité biologique, porter des gants et les protections proportionnelles aux précautions reconnues universellement pour la manipulation des échantillons cliniques.
- Avant d'utiliser le présent produit associé à un test diagnostic ou un outil diagnostic, l'utilisateur doit vérifier si cela est possible.
- Ne pas utiliser le produit s'il est visiblement endommagé.
- Le milieu de culture est TOXIQUE. Ne pas ingérer le milieu.
- Le fabricant ne peut pas être retenu responsable de tout emploi inadéquat ou non qualifié du produit.
- Tous les échantillons sont infectés et doivent être manipulés avec les précautions adéquates.
- Le bouillon Selenite de Copan est destiné seulement à l'emploi diagnostic *en vitro*, son utilisation n'est en aucun cas permise dans des buts thérapeutiques ou prophylactiques.
- Observer les précautions appropriées contre les dangers biologiques et appliquer les techniques aseptiques. Le produit peut être utilisé seulement par un personnel formé et qualifié comme il se doit.
- Il faut lire et suivre attentivement les instructions.
- Attention: le milieu de culture est toxique s'il est ingéré, inhalé ou en cas de contact avec la peau. Porter des gants et utiliser une protection pour les yeux et le visage.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM, Washington, D.C..
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2004. Quality Control for commercially Prepared Microbiological Culture Media. Approved Standard – Third Edition M22-A3
- Miller, J. M. 1999. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Isernberg, H. D., 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Atlas, R.N.1993 Handbook of Microbiological Media p. 147-153. CRC Press, Boca Raton, FL

Copan SELENITE – Hoja ilustrativa del producto & guía de uso

ESPAÑOL

PI24A REV.01 FECHA 2012.10

USO PREVISTO

El caldo Selenite de Copan es un caldo selectivo de enriquecimiento para muestras clínicas. Puede utilizarse para la búsqueda de especies de Salmonela en las muestras de heces o en otros materiales biológicos. El caldo Selenite de Copan puede utilizarse para el procesamiento con sistemas automáticos, y para el cultivo y la siembras en placas de medios de cultivos (incluyendo el Copan WASP).

REACTIVOS

Fórmula del Caldo Selenite de Copan , por litro:
Peptona 5 g
Lactosa 4g
Sal de sodio fosfato 10 g
Sal selenita de sodio 4 g

PRECAUCIONES

- Aplicar precauciones oportunas contra los peligros biológicos y aplicar técnicas asépticas.
- Puede ser utilizado sólo por personal oportunamente entrenado y capacitado.
- Todas las muestras y los materiales usados para la elaboración tienen que considerarse potencialmente infectados y tienen que manipularse de forma de prevenir las infecciones del personal de laboratorio. Después del uso esterilizar todos los residuos biológicamente peligrosos incluyendo las muestras, los contenedores y los medios. Observar las otras recomendaciones CDC de seguridad biológica de nivel 2.
- Las instrucciones tienen que leerse y seguirse atentamente.

ALMACENAMIENTO

Este producto está listo para el uso, y no son necesarias ulteriores operaciones de preparación. El producto tiene que conservarse hasta el momento del uso en su contenedor original a 2-25°C. No recalentar. No incubar o congelar antes del uso. Un almacenamiento inadecuado puede causar una pérdida de efectividad. No usar después de la fecha de caducidad, que se ha impreso claramente en el exterior de la caja, en cada kit específico y en la etiqueta del tubo de transporte de la muestra.

El caldo Selenite de Copan se suministra en cajas de 50 unidades, embaladas y esterilizadas individualmente.

DETERIORO DEL PRODUCTO

No utilizar el caldo Selenite de Copan si: (1) el producto muestra signos visibles de daños o de contaminación; (2) si se detectan evidencias de pérdidas; (3) si se ha superado la fecha de caducidad; (4) si hay otros signos de deterioro.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Cincuenta (50) unidades están contenidas en un paquete comercial y 6 x 50 unidades están contenidas en una caja. Cada unidad está constituida por un paquete estéril que contiene un tubo pre-etiquetado de polipropileno con tapón de tornillo y fondo de forma cónica, que contiene 2 ml de caldo Selenite.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Materiales adecuados para el aislamiento y para el cultivo de las bacterias. Consultar los manuales de referencia de laboratorio para los protocolos recomendados para las técnicas de cultivo y de identificación.

Número de catálogo.	Caldo Selenite de Copan Descripción del producto	Dimensiones del paquete	Apto para la automatización
475CE A	2 ml de caldo Selenite en tubo de polipropileno de 12x80 con tapón de rosca y forma interna cónica	50 unidades por paquete comercial 6x50 unidades por caja	SI
475CE	2 ml de caldo Selenite en tubo de polipropileno de 12x80 con tapón de rosca y forma interna cónica	50 unidades por paquete comercial 6x50 unidades por caja	NO

INSTRUCCIONES PARA EL USO

El caldo Selenite de Copan se utiliza para el enriquecimiento selectivo de las especies de Salmonella presentes en muestras de heces recolectadas con o sin tampón rectal. El caldo Selenite de Copan posee un tapón especial de captura, diseñado para ser utilizado con los hisopos flocados de dimensiones regulares de Copan. Un tampón rectal recolectado utilizando hisopos flocados de dimensiones regulares, como el 552C, o transportado usando el Kit tampón rectal de Copan (450CEA, 470CE), puede transferirse al caldo Selenite de Copan. El tapón de captura facilita la simple manipulación durante la siembra y el cultivo de forma manual. En el caso del 552C, es suficiente romper el hisopo en el punto de rotura termomoldeado en el interior del tubo de Selenite y cerrar el tapón; el hisopo queda enganchado en el tapón. Como alternativa pueden utilizarse los hisopos flocados 502C o 552C, para transferir unos 0,2 g de muestra de heces en el caldo Selenite de Copan.

- Destornillar el tapón del tubo de caldo Selenite.
- Añadir la muestra:
 - tampón rectal: introducir el hisopo en el tubo y romperlo en el punto de rotura
 - muestra de heces: añadir unos 0,2 g de heces usando un hisopo algodónado de dimensiones regulares o una paleta tradicional.
- Para obtener prestaciones óptimas del medio, la relación entre medio y heces tiene que ser igual a 10:1.
- Sustituir el tapón en el tubo y atornillarlo herméticamente.
- Escribir la información relativa al paciente o la muestra en la etiqueta del tubo o aplicar la etiqueta de identificación del paciente/muestra. Enviar inmediatamente la muestra al laboratorio.

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO

PROCEDIMIENTO MANUAL

Muestras recolectadas en el caldo Selenite

- Centrifugar los tubos de Selenite durante 10 segundos.

Muestras recolectadas con hisopo para heces

- Destornillar el tapón del tubo de caldo Selenite.
- Centrifugar el tubo de hisopo par heces que contiene la muestra durante 10 seg.
- Destornillar el tapón del tubo de hisopo para heces y transferirlo al caldo, usando unas pinzas estériles; como alternativa, transferir unos 30µl de medio Cary-Blair, usando una micropipeta.
- Volver a taponar el tubo del hisopo para heces con el tapón originario.
- Volver a taponar el caldo Selenite inoculado con el tapón originario.
- Centrifugar los tubos de caldo Selenite inoculado durante 10 segundos.

- Incubar a 35°C ±2°C durante 18-24 horas.
- Después de la incubación, sembrar la muestra, en una superficie de una placa de agar específica para el aislamiento de muestras de salmonela. El subcultivo de la muestra puede realizarse directamente utilizando un hisopo o sembrando una cantidad determinada de la muestra con un instrumento adecuado para la manipulación de líquidos (micropipeta, asa, etc.), y siguiendo el cultivo en la placa. Sembrar por lo menos 1 ul de muestra.
- Incubar las placas de agar aplicando el procedimiento estándar del laboratorio.

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO

PROCEDIMIENTO AUTOMÁTICO

El caldo Selenite se fabrica en un contenedor apto para ser procesado por el sistema automático para la siembra y el cultivo (WASP). Usando el sistema WASP es posible inocular las muestras recogidas por el sistema Hisopo para heces en el caldo y subcultivar la muestra de caldo Selenite enriquecido.

INOCULACIÓN DEL CALDO CON EL SISTEMA WASP

- Procesar la muestra recogida con el hisopo para heces con un protocolo específico de inoculación del caldo, usando un asa de 30µL. Para más información, consultar el manual del usuario del sistema WASP.
- Examinar el tubo de caldo Selenite para estudiar el crecimiento después de 18-24 horas y, en caso de resultado negativo, volver a incubar durante ulteriores 24 horas.

SUBCULTIVO DE LA MUESTRA DE CALDO ENRIQUECIDO SELENITE CON EL SISTEMA WASP

- Procesar la muestra Selenite enriquecida siguiendo un protocolo específico para el cultivo de una placa apta de medio selectivo. Para mejorar el aislamiento de las colonias, se recomienda el uso de un asa de 1 o 10µL y de una siembra de cuadrante múltiple (tipo de 3-4 cuadrantes). Se recomienda al laboratorio validar el protocolo de siembra. Para más información, consultar el manual del usuario del sistema WASP.
- Incubar las placas, como indicado en el procedimiento estándar de laboratorio.

CONTROL DE CALIDAD

El caldo Selenite de Copan se ha probado con el procedimiento siguiente:

PRUEBA DE LAS PRESTACIONES:

- A partir de un cultivo fresco de *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium ATCC 14028, preparar un 0.5 Mac Farland en PBS.
- Preparar una dilución en serie 10 de 0.5 Mac Farland.
- Verter 100 ul de inóculo directamente en el caldo Selenite de Copan.
- Volver a taponar el tubo.
- Centrifugar durante 10 segundos a 2500 revoluciones por minuto.
- En el tiempo cero colocar 100 ul para dilución en una placa de agar XLD.
- Incubar el tubo a 35°C ±2°C durante 24 horas.
- Después de la incubación, colocar 100 ul de caldo Selenite en una placa de agar XLD para el aislamiento de la *Salmonella*.
- Incubar la placa de agar como se prevé en el procedimiento estándar de laboratorio, a 35°C ±2°C durante 24 horas.

El conteo en el tiempo cero tiene que ser 30-300 CFU/placa y la placa después de un periodo de 24 horas tiene que mostrar un crecimiento cualquiera.

PRUEBA DE LA INHIBICIÓN:

- A partir de un cultivo fresco de *E.coli* ATCC 25922, preparar un 0.5 Mac Farland en PBS.
- Preparar una dilución en serie 10 de 0.5 Mac Farland.
- Verter 100 ul de inóculo directamente en el caldo Selenite de Copan.
- Volver a taponar los tubos.
- Centrifugar durante 10 segundos a 2500 revoluciones por minuto.
- En el tiempo cero colocar 100 ul para dilución en una placa de agar Mc Conkey.
- Incubar a 35°C ±2°C durante 24 horas.
- Después de la incubación, colocar 100 ul de caldo Selenite en una placa de agar McConkey para el aislamiento del *E.coli*.
- Incubar la placa de agar aplicando el procedimiento estándar del laboratorio.


El conteo en el tiempo cero tiene que mostrar un crecimiento confluyente y la placa, después de un periodo de 24 horas, tiene que mostrar una inhibición parcial o completa.

Cepas	Resultados cfu/placa tiempo cero Promedio en 5 placas	Resultados cfu/placa tiempo 24 horas Promedio en 5 placas
<i>Salmonella enterica</i> Serovar Typhimurium ATCC 14028	172	CRECIMIENTO CONFLUENTE
<i>E.coli</i> ATCC 25922	CRECIMIENTO CONFLUENTE	INHIBICIÓN
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 9290	202	CRECIMIENTO CONFLUENTE

LÍMITES

- Las condiciones, el tiempo y el volumen de la muestra recogida para el cultivo son variables significativas para la obtención de resultados de cultivo fiables. Observar las líneas guía recomendadas para la recolección de las muestras.
- Las pruebas de las prestaciones con el caldo Selenite de Copan se han realizado usando cepas de laboratorio verditas en el tubo de caldo Selenite y no utilizando muestras humanas.
- Una recolección adecuada de las muestras del paciente es un factor extremadamente crítico para el aislamiento y la identificación exitosa de los organismos infecciosos. Para una guía específica relativa a los procedimientos de recolección de las muestras, consultar los manuales de referencia publicados. Las muestras tienen que recogerse lo más pronto después de la manifestación clínica de la enfermedad. Durante la fase aguda de la patología están presentes concentraciones bacterianas más altas.
- El caldo Selenite es un caldo selectivo enriquecido para el aislamiento de las muestras de *Salmonella*. El producto no se ha diseñado para mantener la viabilidad de virus y Chlamydia.
- Las muestras de heces requieren una atención especial. Las mismas tienen que tomarse muy pronto durante el desarrollo de la enfermedad y tienen que cultivarse dentro de 2 horas de la toma. En las condiciones óptimas, la muestra tiene que transferirse al medio de transporte inmediatamente después de la toma (como el Cary-Blair o el Transporte patógeno entérico para las muestras, o el Stuarts para los hisopos), para mantener la viabilidad de los organismos. Nunca hay que refrigerar las muestras.
- En el caldo Selenite sin dulcitol el crecimiento coliforme se suprime durante las primeras 8-12 horas, una incubación más larga puede llevar al crecimiento excesivo de la flora mixta.










ADVERTENCIAS

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
-  El presente producto se ha diseñado para un solo uso; su reutilización puede causar el riesgo de resultados no atendibles.
- No apto para cualquier otra aplicación que no sea su uso previsto.
- Trabajar en una cabina de seguridad biológica, ponerse los guantes y otras protecciones proporcionales a las precauciones reconocidas universalmente para la manipulación de muestras clínicas.
- El uso del presente producto junto a cualquier prueba diagnóstica o con cualquier instrumento diagnóstico tiene que ser evaluado por el usuario antes del uso.
- No utilizar el producto si se encuentra visualmente dañado.
- El medio es TOXICO. No ingerir el medio.
- El fabricante no puede considerarse responsable por cualquier uso inadecuado o no cualificado del producto.
- Todas las muestras se consideran infecciosas y tienen que manipularse aplicando precauciones adecuadas.
- El caldo Selenite de Copan se destina solamente al uso diagnóstico *in vitro* y en ningún caso se permite su uso con fines terapéuticos o profilácticos.
- Aplicar precauciones oportunas contra los peligros biológicos y aplicar técnicas asépticas. El producto puede ser utilizado sólo por personal oportunamente entrenado y capacitado.
- Las instrucciones tienen que leerse y seguirse atentamente.
- Atención: el medio es tóxico si ingerido, inhalado o en caso de contacto con la piel. Ponerse los guantes y usar una protección para los ojos/la cara.

BIBLIOGRAFÍA

- Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM, Washington, D.C..
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2004. Quality Control for commercially Prepared Microbiological Culture Media. Approved Standard – Third Edition M22-A3
- Miller, J. M. 1999. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Isenberg, H. D., 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
- Atlas, R.N.1993 Handbook of Microbiological Media p. 147-153. CRC Press, Boca Raton, FL

Index of Symbols/Table des Symboles/Symbole/Tabla de Simbolos/Tabella dei Simboli/Quadro de Símbolos

	Manufacturer/Fabricant/Hersteller/Fabricante/Fabbricante/Fabricante
	Do not reuse/Ne pas réutiliser/Nicht zur Wiederverwendung/No reutilizar/Non riutilizzare/Não voltar a usar
	Catalogue number/Référence du catalogue/Bestellnummer/Número de catálogo/Numero di catalogo/Referência do catálogo
	In Vitro Diagnostic
	Temperature limitation/Limites de température/Temperaturbegrenzung/Limites de temperatura/Limiti di temperatura/Limites de temperatura
	Use by/Utiliser jusque/Verwendbar bis/Fecha de caducidad/Utilizzare entro/Prazo de validade
	Consult Instructions for Use/Consulter les instructions d'utilisation/Gebrauchsanweisung beachten/Consulte las instrucciones de uso/Consultare le istruzioni per l'uso/Consultar as instruções de utilização
	Batch code (Lot)/Code de lot (Lot)/Chargencode (Chargenbezeichnung)/Código de lote (Lote)/Codice del lotto (partita)/ Código do lote (Lote)
	Contents sufficient for <rt> tests/Contenu suffisant pour <rt> tests/Ausreichend für <rt> Tests/Contenido suficiente para <rt> pruebas/Contenuto sufficiente per <rt> test/Contêdo suficiente para <rt> testes

