

**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ**

Το τριχοτομημένο τρυβλίο CHROMagar™ SALMONELLA PLUS – S.S. AGAR - CHROMagar™ Y. enterocolitica χρησιμοποιείται για την εκλεκτική απομόνωση και χρωματική ταυτοποίηση των ειδών *Salmonella spp* (CHROMagar™ SALMONELLA PLUS). Επίσης για την Απομόνωση και ταυτοποίηση των ειδών *Salmonella* και *Shigella* (S.S. AGAR). Και τέλος για την ανίχνευση και άμεση διαφοροποίηση της παθογόνου *Yersinia enterocolitica*. ΣΥΝΙΣΤΑΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΚΟΠΡΑΝΩΝ.

**ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Στο CHROMagar SALMONELLA PLUS οι πεπτόνες παρέχουν στο υλικό τα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη των βακτηρίων. Είναι η βασική πηγή οργανικών νιτρογενών, ιδιαίτερα αμινοξέων και πολυπεπτιδίων. Επίσης είναι πλούσιες σε βιταμίνες, μέταλλα και ιχνοστοιχεία.

Οι εκλεκτικοί παράγοντες αναστέλλουν την ανάπτυξη των Gram (+) κόκκων και ορισμένων gram(-) βακτηριδίων.

Τα χρωμογόνα υποστρώματα διασπώνται από ειδικά μικροβιακά ένζυμα που απελευθερώνουν αδιάλυτες έγχρωμες ενώσεις οι οποίες προσκολλώνται στη κυτταρική μεμβράνη των μικροβίων.

Η *Salmonella* χρησιμοποιεί μόνο ένα από τα χρωμογόνα υποστρώματα και σχηματίζει αποικίες με μοβ χρώμα.

Αν δεν χρησιμοποιηθεί κανένα από τα υποστρώματα, θα υπάρχουν φυσικές ή λευκές αποικίες.

Το White Oraqe δίνει το λευκό χρώμα στο υλικό για να διακρίνονται καλύτερα οι μοβ αποικίες *Salmonella*.

Τα άλατα παρέχουν στο υλικό ηλεκτρολύτες για την μεταφορά και ρυθμίζουν την ωσμωτική ισορροπία του υλικού.

Το άγαρ παρέχει ιχνοστοιχεία και ηλεκτρολύτες. Επίσης στερεοποιεί το υλικό

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
CHROMagar SALMONELLA PLUS	
Peptone and yeast extract	8.0
Chromogenic mix	1.3
Supplement	6,0
Salts	8,5
Agar	15,0

Εμφάνιση: Λευκό μη διαυγές

Τελικό pH 7,6 ± 0.2 στους 25 °C

Στο S.S. AGAR το Beef Extract και το Balanced Peptone No. 1 παρέχουν άζωτο, βιταμίνες, μέταλλα και αμινοξέα απαραίτητα για την ανάπτυξη. Η λακτόζη είναι ο ζυμώσιμος υδατάνθρακας που παρέχει άνθρακα και ενέργεια. Μείγμα Bile Salts No. 3, Sodium citrate και Brilliant Green αναστέλλουν τα Θετικά (+) κατά Gram βακτήρια, τα περισσότερα κολοβακτηρίδια και μερικούς *Proteus spp*. Επιτρέποντας παράλληλα την ανάπτυξη της *Salmonella spp*.

Το Neutral Red είναι ο δείκτης του pH. Το Sodium thiosulphate και το Ferric citrate επιτρέπουν την ανίχνευση του H<sub>2</sub>S που παράγουν βακτήρια, όπως ο *Proteus* και ορισμένα στελέχη της *Salmonella*, καθώς παράγουν αποικίες με μαύρα κέντρα και καθαρό φωτιστέφανο.

Τα βακτήρια που δεν ζυμώνουν τη λακτόζη (υποτιθέμενα παθογόνα) παράγουν διαυγείς αποικίες, διαφανείς ή άχρωμες, ενώ τα κολοβακτηρίδια παρεμποδίζονται επαρκώς και σχηματίζουν μικρές αποικίες που ποικίλλουν από ροζ σε κόκκινο χρώμα. Η σύνθεση αυτή είναι ιδιαίτερα εκλεκτική, και δεν συνιστάται για την πρωταρχική απομόνωση της *Shigella*. Ορισμένοι στελέχη *Shigella spp*. Μπορεί να μην αναπτυχθούν.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
S.S. AGAR	
Beef Extract	5.0
Balanced Peptone No. 1	5.0
Lactose	10.0
Bile Salts No. 3	8.5
Sodium citrate	8.5
Sodium thiosulphate	8.5
Ferric citrate	1.0
Brilliant Green	0.00033
Neutral Red	0.025
Agar No. 2	13.5

Εμφάνιση: Κόκκινο - Ροζ διαυγές,

Τελικό pH 7.4 ± 0.2. στους 25 °C

Στο CHROMagar™ Y. enterocolitica οι πεπτόνες παρέχουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά στο υλικό.

Οι εκλεκτικοί παράγοντες αναστέλλουν την ανάπτυξη των Gram (+) κόκκων και ορισμένων gram(-) βακτηριδίων.

Τα χρωμογόνα υποστρώματα διασπώνται από ειδικά μικροβιακά ένζυμα που απελευθερώνουν αδιάλυτες έγχρωμες ενώσεις οι οποίες προσκολλώνται στη κυτταρική μεμβράνη των μικροβίων.

Η *Yersinia enterocolitica* χρησιμοποιεί μόνο ένα από τα χρωμογόνα υποστρώματα και σχηματίζει αποικίες με μοβ χρώμα.

Αν δεν χρησιμοποιηθεί κανένα από τα υποστρώματα, θα υπάρχουν φυσικές ή λευκές αποικίες.

Τα άλατα διατηρούν την ωσμωτική ισορροπία στο υλικό.

Το άγαρ παρέχει ιχνοστοιχεία και ηλεκτρολύτες. Επίσης στερεοποιεί το υλικό.

<b>ΣΥΝΘΕΣΗ CHROMagar™ Y. enterocolitica</b>	<b>g/litre</b>
Chromogenic mix	1,3
Peptones	20,0
Salts	5,0
Selective mix	0.1
Agar	15,0

Εμφάνιση: Μπεζ ανοιχτό διαυγές  
Τελικό pH 7.0 ± 0.2 στους 25 °C.

## ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το CHROMagar™ SALMONELLA PLUS – S.S. AGAR - CHROMagar™ Y. enterocolitica είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου.

Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγιεινομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυούνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).

Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες.

Εάν το τρυβλίο είναι ραγισμένο ή το σακουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε.

Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης.

Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό χωρίς ρωγμές, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης.

Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση.

Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλύνουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι.

Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

## ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους 2 – 8 °C μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους.

Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των 2 °C δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση.

Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για 5 – 7 μέρες αφού το σφραγίσετε με παραφίλμ η με σακουλάκι.

Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους 14 - 25 °C για 4 ημέρες ή στους 26 - 40 °C για 48 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

## ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Τοποθετήστε τα τρυβλία στον επωαστικό κλίβανο (35 - 37 °C) για 30 – 45' μέχρι να στεγνώσουν.

Ενοφθαλμίστε το δείγμα σε μία άκρη του τρυβλίου και στη συνέχεια κάνετε διαδοχικές επιστρώσεις με τον κρίκο σε παράλληλες γραμμές με σκοπό να δημιουργήσετε μεμονωμένες αποικίες. Επωάστε στους 35 – 37 °C σε αερόβια ατμόσφαιρα για 18 – 24 ώρες. Μετά από 18 – 24 ώρες ελέγξτε τα τρυβλία για τις παρακάτω αλλαγές χρώματος.

## ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

CHROMagar SALMONELLA PLUS:

Μετά από 24 ώρες επώαση ελέγχουμε τα τρυβλία για πιθανή ανάπτυξη *Salmonella*.

Η παθογόνος *Salmonella* εμφανίζει μοβ αποικίες μεγέθους 2 έως 3mm.

Η *Escherichia coli* εμφανίζει άχρωμες αποικίες.

Άλλα βακτηρίδια που αναπτύσσονται η παρουσιάζουν περιορισμένη ανάπτυξη εμφανίζουν μπλε μεταλλικές αποικίες (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Aeromonas* κ.λπ.)

S.S. AGAR:

Τα Εντεροβακτηριακά διαφοροποιούνται από την ικανότητα τους να ζυμώνουν την λακτόζη. Τα είδη της Σαλμονέλλας και της Σιγγέλας που δεν ζυμώνουν την λακτόζη και παράγουν άχρωμες αποικίες. Τα είδη της Σαλμονέλλας που παράγουν H<sub>2</sub>S εμφανίζουν αποικίες με μαύρο κέντρο. Η *E. coli* παράγει ροζ έως κόκκινες αποικίες. Ο Πρωτέας μπορεί να αναπτυχθεί στο S.S. Agar δίνοντας αποικίες με γκρι έως μαύρο κέντρο λόγω της παραγωγής υδρόθειου. Ο *Enterococcus faecalis* αναστέλλεται μερικώς ενώ οι αποικίες του είναι άχρωμες.

CHROMagar™ Y. enterocolitica:

Μετά από 24 ώρες επώαση ελέγχουμε τα τρυβλία για πιθανή ανάπτυξη *Yersinia*.

Η παθογόνος *Yersinia enterocolitica* εμφανίζει μοβ αποικίες μεγέθους 2 έως 3mm.

Η μη παθογόνος *Yersinia enterocolitica* εμφανίζει μπλε μεταλλικές αποικίες.

Άλλα βακτηρίδια που αναπτύσσονται η παρουσιάζουν περιορισμένη ανάπτυξη εμφανίζουν επίσης μπλε μεταλλικές αποικίες (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Aeromonas* κ.λπ.)

## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

CHROMagar SALMONELLA PLUS:

Η τελική ταυτοποίηση πρέπει να γίνεται με βιοχημικούς και ορολογικούς ελέγχους. (π.χ., δοκιμή συγκόλλησης Microgen Salmonella Latex κωδικός: F42) και μπορεί να εκτελούνται απευθείας από τις ύποπτες μοβ αποικίες Σαλμονέλα.

Η *Salmonella* Dublin μπορεί να εμφανίσει άχρωμες αποικίες, αλλά είναι πολύ σπάνια Σαλμονέλα.

Ορισμένα στελέχη *E. coli* μπορεί να εμφανίσουν ελαφρώς μοβ χρώμα στις αποικίες τους.

Ορισμένα στελέχη *Pseudomonas* μπορεί επίσης να σχηματίσουν μοβ αποικίες. Αυτό μπορεί να εξαλειφθεί με μια δοκιμή οξειδάσης (Oxidase Test Strips-Code MID-61G) η οποία μπορεί να πραγματοποιηθεί απευθείας στην ύποπτη αποικία.

#### S.S. AGAR:

Η ενσωμάτωση Brilliant Green σε αυτό το μέσο το καθιστά εξαιρετικά επιλεκτικό και έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει την ανάπτυξη ορισμένων ειδών *Shigella*. Επομένως, είναι καλύτερα το S.S. Agar να χρησιμοποιείται μαζί με ένα CHROMagar™ SALMONELLA PLUS (010315) ή HEKTOEN ENTERIC AGAR (010047) ή τέλος με MAC CONKEY AGAR (010065).

Τα χολικά άλατα μπορεί να κρυσταλλωθούν με την πάροδο του χρόνου και πριν την ημερομηνία λήξης του τρυβλίου. Έτσι παρατηρούμε λευκά στίγματα στην επιφάνεια του άγαρ που μοιάζουν με υφομόκητες ή με ιστό αράχνης. Αυτά δεν επηρεάζουν την απόδοση του υλικού και μάλιστα μετά την επώαση ενσωματώνονται στο υλικό.

Μερικά στελέχη *Shigella*, όπως η *S. sonnei* και η *S. dysenteriae*, μπορούν να ζυμώσουν τη λακτόζη σχετικά αργά και οι αποικίες να μετατραπούν σε λακτόζη θετικές μετά από καλλιέργεια για 2 ή περισσότερες ημέρες.

Συνιστάται η διεξαγωγή βιοχημικών και άλλων επιβεβαιωτικών δοκιμών που απαιτούνται για την ταυτοποίηση.

#### CHROMagar™ *Y. enterocolitica*:

Ορισμένες *Y. enterocolitica* μπορεί να έχουν μέτρια ή καθόλου ανάπτυξη στο υλικό.

Μερικά σπάνια στελέχη μη παθογόνων *Yersinia* μπορεί να

εμφανίσουν μωβ αποικίες (*Y. bercovieri*, *Y. mollareti*,

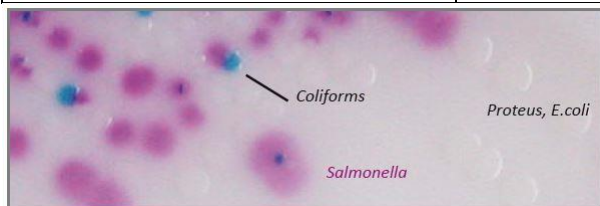
*Y. kristensenii*, *Y. rohdei* κ.λπ.).

Πρέπει να γίνει τελική επιβεβαίωση της *Y. enterocolitica* με κατάλληλες μεθόδους

### ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

CHROMagar SALMONELLA PLUS:

Μικροοργανισμός	Χαρακτηριστικά αποικιών
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028	Μοβ
<i>Salmonella abaeutuba</i> ATCC® 35640	Μοβ
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC® 13076	Μοβ
<i>Salmonella arizonae</i> CIP 8230	Μοβ
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Άχρωμες
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC® 8090	Μπλε μεταλλικές
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Αναστέλλεται
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 9027	Αναστέλλεται



#### S.S. AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Μορφή και χρώμα αποικιών
<i>Escherichia coli</i>	25922	Μερική αναστολή Κόκκινες αποικίες.
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Μερική αναστολή
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	Άχρωμες με μαύρο κέντρο.
<i>Shigella flexneri</i>	12022	Άχρωμες αποικίες.



S.S. AGAR: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

#### CHROMagar™ *Y. enterocolitica*

Μικροοργανισμός	ATCC	Χαρακτηριστικά αποικιών
<i>Y. enterocolitica</i>	12982	Μοβ
<i>Y. enterocolitica</i>	biotype 1A	Μπλε μεταλλικό
<i>Escherichia coli</i>	25922	Αναστέλλεται
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Αναστέλλεται

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Αναστέλλεται
<i>Citrobacter freundii</i>	9750	Μέτρια αναστολή



*Y. enterocolitica* ATCC 12982 (μολ)

#### ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα.

Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικούς μολυσματικά απόβλητα.

Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

#### ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

CHROMagar™ SALMONELLA PLUS – S.S. AGAR - CHROMagar™ *Y. enterocolitica*

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Διχοτομημένο τρυβλίο 9cm	030743	10 τεμάχια	2 – 8 °C	3 μήνες

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepare σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714010490X8. EDMA: (14 01 04 90) Other Prepared Media in Plates.

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ8δ/1348/2004

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

CHROMagar™ SALMONELLA PLUS

(1) de Beaumont C., Breuil J., Dedicova D. Tran Q. 2006. Poster presented during ECCMID meeting.

Evaluation of a new chromogenic medium CHROMagar™ Salmonella Plus for the detection of Salmonella spp including lactose positive Salmonella, *S.Typhi* and *S.Paratyphi*.

#### S.S. AGAR

Isenberg, H.D., Kominos, S., and Siegel, M. (1969). Isolation of salmonellae and shigellae from an artificial mixture of fecal bacteria. *Appl. Microbiol.*, 18: 4, 656-659.

Leifson, E. (1935). New culture media based on sodium desoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. *J. Pathol. Bacteriol.*, 40: 581-589.

Taylor, W.I., Harris, B. (1965) Isolation of shigellae. II. Comparison of plating media and enrichment broths. *Am. J. Clin. Pathol.* 44: 4, 476-479.

#### CHROMagar™ *Y. enterocolitica*

Comparison of CHROMagar *Yersinia* and CIN Agar media for isolation of potentially virulent *Yersinia enterocolitica* in stools. Nicolas Renaud,<sup>a</sup> Laetitia Lecci,<sup>a</sup> René J. Courcol,<sup>a,b</sup> Michel Simonet,<sup>a,b</sup> Olivier Gaillota Lille University Medical Center and INSERM U1019,<sup>b</sup> Lille, France *Journal of Clinical Microbiology* p. 1184–1187 April 2013 Volume 51 Number 4 COMPLETE ARTICLE

Comparison of CHROMagar *Yersinia* and CIN Agar media for isolation of potentially virulent *Yersinia enterocolitica* in stools. Nicolas RENAUD et al. *Microbiology Laboratory, Lille University Hospital, LILLE, France ASM Poster 2012.*

Differentiation of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A from pathogenic *Yersinia enterocolitica* biotypes by detection of B-glucosidase activity: comparison of two chromogenic culture media and Vitek2. Jari Karhukorpi and Marjut Paivanurmi *Journal of Medical Microbiology*

#### ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO



#### Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: [bioprep1@otenet.gr](mailto:bioprep1@otenet.gr) [www.bioprep.gr](http://www.bioprep.gr)