

KALİTE KONTROLÜ PROSEDÜRLERİ**I GİRİŞ**

Lysine Iron Agar (Lizin Demir Agar), enterik basillerin teşhisinde kullanım için diferansiyel bir besiyeridir.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

1. Aşağıda listelenen kültürler ile temsili örnekleri inoküle edin.
 - a. Örnekleri bir inokülasyon iğnesi ile uç kısmı delerek ve slanta sürerek inoküle edin. Aşağıda listelenen organizmaların 18 ila 24 saatlik **Trypticase** Soy Broth kültürlerinin 10^{-1} seyreltimlerini kullanın.
 - b. Kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de aerobik atmosferde inkübe edin.
2. 18 ila 24 s sonra tüpleri gelişim ve reaksiyonlar açısından inceleyin.
3. Beklenen Sonuçlar

Organizmalar	ATCC	Slant	Uç	H ₂ S
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>	13314	Bazik (mor)	Bazik (mor)	+
* <i>Citrobacter freundii</i>	8454	Bazik (mor)	Asit (sarı)	+ veya -
* <i>Proteus vulgaris</i>	9484	Kırmızı	Asit (sarı)	-

*Kullanıcı tarafından Kalite Kontrolü için tavsiye edilen organizma.

III EK KALİTE KONTROLÜ

1. Tüpleri "Ürünün Bozulması" altında tanımlandığı şekilde inceleyin.
2. Mevcut olan herhangi bir fiziksel bozukluğun kullanımı etkilemeyeceğinden emin olmak için temsili tüpleri görsel olarak inceleyin.
3. İnoküle edilmemiş temsili tüpleri 20 – 25 °C ve 30 – 35 °C'de inkübe edin ve 7 gün sonra mikrobiyal kontaminasyon açısından inceleyin.

ÜRÜN BİLGİLERİ**IV KULLANIM AMACI**

Lysine Iron Agar, enterik organizmaları, lizini dekarboksile veya deamine etme ve hidrojen sülfid oluşturma yetenekleri temelinde tespit etmekte kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

Edwards ve Fife, *Arizona* (artık *Salmonella enterica* subsp. *arizonae*) kültürlerinin, özellikle laktozu hızla fermente edenlerin saptanması için Lysine Iron Agar'ı tasarlamıştır.¹ Bu gelişme, *Enterobacteriaceae* familyası içerisindeki ana bölümün ve grupların tanımlandığı ve tespit prosedürlerinin açıklandığı *Enterobacteriaceae* için taksonomik düzenin Ewing ve Edwards tarafından yayınlanmasını yakından takip etmiştir.² Kültürlerin teşhisine yönelik çeşitli kriterler Edwards ve Ewing tarafından *Enterobacteriaceae* hakkındaki bilimsel çalışmalarında özetlenmiştir.³ Bununla birlikte, *Enterobacteriaceae*'nin taksonomisi son yıllarda büyük ölçüde değişmiştir.⁴⁻⁶

Johnson ve ekibi, *Enterobacteriaceae* familyası içerisinde çeşitli bakteri gruplarının birincil tespiti için Lysine Iron Agar ve Kligler Iron Agar'ı ve dışkıdan *Salmonella*, *Shigella* ve *Arizona* grubu organizmaların teşhisi için Lysine Iron Agar ve Triple Sugar Iron Agar kombinasyonunu kullanmıştır.⁷

Lysine Iron Agar, enterik basillerin, lizini dekarboksile etme ve lizini hidrojen sülfür oluşturacak şekilde deamine etme yeteneğine göre tespitine yardım eder. Uygun teşhis düzenlerinde diğer besiyerleriyle (örn., Triple Sugar Iron Agar) kullanmak için tasarlanmıştır.

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Dekstroz, fermente olabilen bir karbonhidrat kaynağı olarak hizmet eder. pH göstergesi, bromkresol moru, pH 5,2 veya altında sarıya döner ve pH 6,8 veya üzerinde mordur.⁸ Ferrik amonyum sitrat ve sodyum tiyosülfat, hidrojen sülfid oluşumu göstergeleridir. Lizin, lizin dekarboksilaz ve lizin deaminaz enzimlerini saptamada kullanıma yönelik bir substrattır.

Hidrojen sülfür oluşturan enterik basil kültürleri, ferröz sülfid üretimi sebebiyle besiyerinin kararmasına neden olur. Lizin dekarboksilaz üretenler besiyerinin uç kısmında bazik bir reaksiyon (mor renk) veya nötral bir reaksiyon oluşturur. Lizini deamine eden organizmalar asit uç üzerinde kırmızı bir slant gelişmesine neden olur. Gaz oluşabilir, fakat oluşması genellikle düzensizdir veya baskılanır.

VII REAKTİFLER

Lysine Iron Agar

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

Jelatinin Pankreatik Dijesti	5,0 g	Ferrik Amonyum Sitrat	0,5 g
Maya Ekstraktı	3,0 g	Sodyum Tiyosülfat	0,04 g
Dekstroz	1,0 g	Bromkresol Moru	0,02 g
L-Lizin	10,0 g	Agar	13,5 g

*Performans kriterlerini karşılamak üzere gereken şekilde ayarlanmış ve/veya desteklenmiştir.

Uyarılar ve Önlemler: *In vitro* Diyagnostik Kullanım içindir.

Sıkılmış kapaklı tüpler, camın kırılmasına bağlı yaralanmaları önlemek için dikkatli bir şekilde açılmalıdır.

Tüm prosedürler boyunca mikrobiyolojik tehlikelere karşı uygun aseptik teknikleri ve belirlenen önlemleri uygulayın. Hazır tüpleri, örnek kaplarını ve kontamine olmuş diğer malzemeleri atmadan önce otoklavlama yoluyla sterilize edin.

Saklama Talimatları: Alındıktan sonra, tüpleri karanlıkta 2 ila 8°C'de saklayın. Dondurmaktan ve fazla ısıtmaktan kaçının. Kullanıma hazır olana kadar açmayın. Işığa maruz kalmamasını sağlayın. Kullanım öncesine kadar etikette belirtildiği şekilde saklanan tüp besiyeri, son kullanma tarihine kadar inoküle edilebilir ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir. Besiyerinin inokülasyon öncesinde oda sıcaklığına gelmesini bekleyin.

Ürünün Bozulması: Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma veya diğer bozulma belirtileri görmeniz halinde tüpleri kullanmayın.

VIII ÖRNEK TOPLAMA VE İŞLEME

Kültür için uygun örnekler, çeşitli teknikler kullanılarak işlenebilir. Ayrıntılı bilgi için ilgili metinlere bakın.^{9,10}

Örnekler, antimikrobiyal ajanlar verilmeden önce alınmalıdır. Örneklerin laboratuvara hızlı bir şekilde ulaştırılması için gerekli düzenlemeler yapılmalıdır.

IX PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler: Lysine Iron Agar Slantları

Gerekli fakat sağlanmamış malzemeler: Yardımcı kültür besiyeri, reaktifler, kalite kontrol organizmaları ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

Bir inokülasyon iğnesi kullanarak, uç kısmı iki kez delin ve saf bir kültürden gelişim ile sürme yöntemini kullanarak slanta ekim yapın. Tüpleri, kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de aerobik atmosferde 18 ila 48 s inkübe edin.

Bu besiyerinden, örneğin *Shigella*'dan koliformları ayırmak için daha önceden sonuçlar elde edilmemişse Triple Sugar Iron Agar slantlar paralel olarak inoküle edilmelidir.

Kullanıcı tarafından Kalite Kontrolü: "Kalite Kontrolü Prosedürleri"ne bakın.

Kalite kontrolü gereksinimleri ilgili yerel, resmi ve/veya federal düzenlemelere veya akreditasyon gerekliliklerine ya da laboratuvarınızın standart Kalite Kontrolü prosedürlerine uygun olarak gerçekleştirilmelidir. Kullanıcının, uygun Kalite Kontrolü uygulamaları için ilgili CLSI (eski adı NCCLS) yönergelerine ve CLIA düzenlemelerine uyması önerilir.

X SONUÇLAR

Lizin dekarboksilasyonu uçta bazik (mor) bir reaksiyon ile saptanır. Lizin deaminasyonu kırmızı bir slant ile saptanır. Hidrojen sülfid üretimi siyah bir çökelti oluşması ile saptanır. Negatif bir reaksiyon (mor slant ve sarı uç) yalnızca dekstrozun fermentasyonunu gösterir.⁸

Uçta asit üretimi, oluşumunu baskılayabileceğinden bu besiyerinde lizin dekarboksilaz aktivitesi açısından negatif organizmalar tarafından hidrojen sülfid üretimi saptanmayabilir.⁸ Bu sebeple H₂S üreten *Proteus* türleri bu besiyerini karartmaz.⁸

Enterobacteriaceae üyeleri tarafından tipik reaksiyonlar:

Organizma	Slant	Uç	H ₂ S
<i>Arizona</i> grubu	Bazik	Bazik veya Nötral	+
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotip Paratyphi A	Bazik	Asit	–
Diğer <i>Salmonella</i>	Bazik	Bazik	+
<i>Shigella</i>	Bazik	Asit	–
<i>Citrobacter</i>	Bazik	Asit	+ veya –
<i>Klebsiella</i>	Bazik veya Nötral	Bazik veya Nötral	–

<i>Escherichia</i>	Bazik	Bazik veya Nötral*	–
<i>Proteus</i>	Kırmızı	Asit	–
<i>Providencia</i>	Kırmızı	Asit	–

Anahtar: Bazik = mor renk • Asidik = sarı renk • Nötral = Mavimsi-gri renk
*Bazik veya nötral bir reaksiyon dekarboksilasyonu gösterir.

XI PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

Teşhis için, organizma saf kültürde bulunmalıdır. Nihai teşhis için morfolojik, biyokimyasal ve/veya serolojik testler gerçekleştirilmelidir. Detaylı bilgiler ve tavsiye edilen prosedürler için ilgili metinlere bakın.^{5,9,10}

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Piyasaya sürülmeden önce tüm Lysine Iron Agar slantları performans özellikleri açısından test edilir. Slanta sürme yöntemi ile ekim yapılarak ve uç kısmı bir inokülasyon iğnesi ile delinerek, *Salmonella arizonae* (ATCC 13314), *Proteus vulgaris* (ATCC 9484) ve *Citrobacter freundii* (ATCC 8454), 10⁻¹ oranında seyreltilmiş **Trypticase** Soy Agar kültürleri veya **Trypticase** Soy Broth kültürleri ile temsili lot örnekleri test edilir. Tüpler, kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de inkübe edilir ve 18 ila 24 s sonra gelişim ve reaksiyonlar açısından okunur. Bütün organizmaların gelişimi orta ila yoğundur. *S. arizonae*, hem slant hem de uça bazik bir reaksiyon (mor renk) ile gösterildiği gibi lizini dekarboksile eder ve besiyerinin kararması ile gösterildiği gibi hidrojen sülfid üretimi açısından pozitifdir. *P. vulgaris*, uç asidik iken (sarı renk) slantta kırmızı renk reaksiyonu ile gösterildiği gibi lizini deamine eder ve hidrojen sülfür üretimi açısından negatifdir. *C. freundii*, dekstrozun fermentasyonunu gösteren ve hidrojen sülfid oluşturan veya oluşturmeyen, slantta bazik bir reaksiyon ve uça (sarı renk) asidik bir reaksiyona neden olarak hem lizin deaminasyonu hem de lizin dekarboksilasyonu açısından negatifdir.

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No.	Açıklama
220952	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, 10'lu boyut K tüp paketi
220953	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, 100'lü boyut K tüp kutusu
297700	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, 100'lü boyut D tüp kutusu

XIV REFERANSLAR

1. Edwards, P.R., and M.A. Fife. 1961. Lysine-Iron Agar in the detection of *Arizona* cultures. Appl. Microbiol. 9:478-480.
2. Ewing, W.H., and P.R. Edwards. 1960. The principal divisions and groups of *Enterobacteriaceae* and their differentiation. Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon. 10:1-12.
3. Edwards, P.R., and W.H. Ewing. 1962. Identification of *Enterobacteriaceae*, Burgess Publishing Co., Minneapolis.
4. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
5. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
6. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification, p. 442-458. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Johnson, J.G., L.J. Kunz, W. Barron, and W.H. Ewing. 1966. Biochemical differentiation of the *Enterobacteriaceae* with the aid of Lysine-Iron-Agar. Appl. Microbiol. 14:212-217.
8. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
9. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.

BD Diagnostics Teknik Desteği: yerel BD temsilcinizle temasa geçin veya www.bd.com/ds adresine başvurun.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.