

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

I ВВЕДЕНИЕ

Желчно-эскулиновый агар Bile Esculin Agar — это среда для предположительной идентификации видов *Enterococcus* и группы стрептококков *Streptococcus bovis*.

II МЕТОДИКА ТЕСТИРОВАНИЯ

- Засейте репрезентативные образцы перечисленными далее культурами.
 - Засейте штрихами поверхности скошенной среды с помощью калиброванной петли вместимостью 0,01 мл. Используйте растворы (10^{-1}) культур, выдержанных в триптиказо-соевом бульоне **Trypticase Soy Broth** в течение 18 – 24 ч.
 - Инкубируйте неплотно закрытые пробирки при температуре 35 ± 2 °C в аэробной атмосфере.
 - Для неселективного контроля всех микроорганизмов используйте скошенный триптиказо-соевый агар **Trypticase Soy Agar**.
- Через 18 – 24 ч и 42 – 48 ч проверьте пробирки на наличие роста, избирательности и правильных реакций.
- Ожидаемые результаты

Микроорганизмы CLSI	ATCC	Выделение	Реакция с эскулином
* <i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Рост	Почернение вокруг колоний (почернение половины или более среды)
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Ингибирование (от частичного до полного)	Отсутствие почернения
Дополнительный микроорганизм <i>Streptococcus gallolyticus</i>	9809	Рост	Почернение половины или более среды

* Штамм микроорганизма, рекомендуемый для контроля качества.

III ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

- Проверьте пробирки, как описано в разделе «Разложение продукта».
- Визуально проверьте репрезентативные пробирки, чтобы убедиться в том, что существующие физические дефекты не будут препятствовать использованию.
- Выдерживайте незасеянные репрезентативные пробирки при температуре от 20 до 25 °C и от 30 до 35 °C и проверьте на наличие бактериального загрязнения через 7 дней.

СВЕДЕНИЯ О ПРОДУКТЕ

IV НАЗНАЧЕНИЕ

Желчно-эскулиновый агар Bile Esculin Agar используется для дифференциации энтерококков и группы *Streptococcus bovis* от других стрептококков.^{1,2}

V КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ

Рошэ (Rochaix) отметил важность гидролиза эскулина в идентификации энтерококков.³ Мэйер (Meyer) и Шонфельд (Schonfeld) поместили желчь в эскулиновую среду и показали, что 61 из 62 энтерококков смогли расти и расщеплять эскулин, в то время как остальные стрептококки этого не могли.⁴ Свон (Swan) использовал эскулиновую среду, содержащую 40 % солей желчных кислот, и сообщил, что положительная реакция в желчно-эскулиновой среде согласовалась с реакцией преципитации серологической группы D.⁵

VI ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ

Энтерококки и некоторые стрептококки гидролизуют гликозид и эскулин в эскулетин и декстрозу. Эскулетин вступает в реакцию с солью железа для образования комплекса с темно-коричневой или черной окраской.⁶ Лимоннокислое железо помещается в среду в качестве индикатора гидролиза эскулина и результирующего формирования эскулетина. Бычья желчь используется для ингибирования грамположительных бактерий, отличных от энтерококков.

VII РЕАГЕНТЫ

Bile Esculin Agar Slants

Примерная рецептура* на литр очищенной воды

Панкреатический гидролизат желатина	5,0 г	Лимоннокислое железо	0,5 г
Мясной экстракт	3,0 г	Эскулин	1,0 г
Бычья желчь	20,0 г	Агар	14,0 г

* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

Предупреждения и меры предосторожности. Для диагностики *in vitro*.

Пробирки с плотными крышками следует открывать осторожно, чтобы не разбить пробирку и не пораниться осколками. При выполнении любых процедур соблюдайте правила асептики и установленные меры биологической безопасности. После использования перед утилизацией стерилизуйте в автоклаве подготовленные пробирки, контейнеры для образцов и другие загрязненные материалы.

Условия хранения. После получения храните пробирки в темноте при температуре от 2 до 8 °С. Избегайте замораживания и перегрева. Открывайте непосредственно перед использованием. Сведите к минимуму воздействие света. Среда, хранящаяся в пробирках в соответствии с указаниями на этикетке, может быть засеяна до истечения срока годности и выдержана в течение рекомендуемого инкубационного периода. Перед посевом дайте среде нагреться до комнатной температуры.

Разложение продукта. При наличии признаков бактериального загрязнения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта не используйте пробирки.

VIII ВЗЯТИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

Подходящие для культивирования образцы можно обрабатывать, используя различные методики. Подробную информацию см. в соответствующих документах.^{7,8} Образцы следует собирать до введения противомикробных средств. Необходимо обеспечить своевременную доставку в лабораторию.

IX МЕТОДИКА

Поставляемые материалы. Bile Esculin Agar Slants

Необходимые, но непоставляемые материалы. Требуется дополнительная питательная среда, реагенты, культуры микроорганизмов для контроля качества и лабораторное оборудование.

Методика тестирования. Соблюдайте асептическую методику работы.

Засейте среду двумя или тремя колониями и инкубируйте ее в течение ночи при температуре 35 ± 2 °С в аэробной атмосфере.⁹

Контроль качества. См. раздел «Методики контроля качества».

Следуйте требованиям контроля качества в соответствии с применимым местным, региональным и/или федеральным законодательством, требованиями аккредитации и методиками контроля качества, принятыми в лаборатории. Для получения информации о надлежащих методиках контроля качества пользователям рекомендуется ознакомиться с документацией Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI, ранее NCCLS) и положениями Закона о совершенствовании работы клинических лабораторий (CLIA).

X РЕЗУЛЬТАТЫ

Если более половины скошенной среды почернело за 24 – 48 ч, тест дает положительный результат. Если за 24 – 48 ч почернело менее половины скошенной среды или почернение не появилось, тест дает отрицательный результат.

XI ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Штаммы *Lactococcus*, *Leuconostoc* и *Pediococcus*, которые дают положительную желчь-эскулиновую реакцию, были выделены из инфицированных человеческих образцов.^{1,9}

Отдельные штаммы зеленящих стрептококков вызвали почернение среды или демонстрировали слабые положительные реакции.²

Для идентификации должны использоваться микроорганизмы чистой культуры. Для окончательной идентификации необходимо выполнять морфологические, биохимические и (или) серологические тесты. Дополнительную информацию и рекомендованные методики см. в соответствующих документах.^{7,8}

XII ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Хуссейн (Hussain) и др. протестировали 194 стрептококковых изолята, предварительно идентифицированных посредством серологического тестирования, чтобы определить эффективность обнаружения различных биохимических тестов для идентификации стрептококков групп А и В, а также дифференциации энтерококков и не являющихся энтерококками стрептококков группы D. Двадцать два (22) штамма энтерококков группы D были идентифицированы. Сто процентов (100 %) стрептококков группы D и по 1 штамму из группы R и негруппируемых стрептококков вызвали почернение скошенных сред желчно-эскулинового агара Bile Esculin Agar. С помощью плотной культуры гидролиз эскулина регистрировался в течение 4 ч в 93 % тестируемых образцов.¹⁰

XIII НАЛИЧИЕ

№ по каталогу	Описание
221409	BD BBL Bile Esculin Agar Slants, 10 пробирок размера К в упаковке
221410	BD BBL Bile Esculin Agar Slants, 100 пробирок размера К в упаковке

XIV СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Facklam, R.R., D.F. Sahn, and L.M. Teixeira. 1999. *Enterococcus*, p. 297-305. 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.
2. Ruoff, K.L., R.A. Wiley, and D. Beighton. 1999. *Streptococcus*, p. 283-296. 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.
3. Rochemaix, A. 1924. Millieux a leculine pour le diagnostid differentiel des bacteries du groups strepts-entero pneumocoque. Comt. Rend. Soc. Biol. 90:771-772.
4. Meyer, K., and H. Schonfeld. 1926. Uber die Unter sheidung des *Enterococcus* vom *Streptococcus viridans* und die Beziehungunger beider zum *Streptococcus lactis*. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infectionskr. Hyg. Abt. I. Orig. 99:402-416.
5. Swan, A. 1954. The use of bile-esculin medium and of Maxted's technique of Lancefield grouping in the identification of enterococci (group D streptococci). J. Clin. Pathol. 7:160-163.
6. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
7. 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.

8. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
9. Ruoff, K.L. 1995. *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Stomatococcus*, and miscellaneous gram-positive cocci that grow aerobically, p. 315-323. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Hussain, Z., R. Lannigan, and L. Stoakes. 1984. A new approach for presumptive identification of clinically important streptococci. Zbl. Bakt. Hyg. A 258:74-79.

Служба технической поддержки BD Diagnostics: обращайтесь к местному представителю компании BD или на сайт www.bd.com/ds.



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



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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD