



BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine BBL Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine



L007470 • Rev. 10 • Ocak 2015

KALİTE KONTROLÜ PROSEDÜRLERİ

I GİRİŞ

Moeller Decarboxylase Broth Base (Moeller Dekarboksilaz Broth Baz), lizin veya ornitin ile takviye edildiğinde, dekarboksilaz reaksiyonlar yoluyla enterik basilinin ayrıştırılmasına yardımcı olur.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

- Aşağıda listelenen kültürler ile temsili örnekleri inoküle edin.
 - 18 ila 24 saatlik **Trypticase** Soy Agar Slant kültürlerinden gelişimle 0,01 mL kalibre edilmiş özeler kullanarak broth tüplerine hafifçe inoküle edin. Tüm organizmalar için gelişim kontrolleri olarak amino asit olmaksızın Moeller Decarboxylase Broth Base (Moeller Dekarboksilaz Broth Baz) tüplerini içerir.
 - 2,0 mL steril mineral yağa sahip tüm tüpleri yükleyin.
 - Tüpleri, kapakları sıkılmış bir halde 35 ± 2 °C'de inkübe edin.
- 24, 48, 72 ve 96 s sonra tüpleri reaksiyonlar açısından inceleyin.
- Beklenen Sonuçlar

Organizmalar	ATCC	Lisin	Ornitin
* <i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	33495	+	-
* <i>Enterobacter cloacae</i>	13047	-	+

Not: + = pozitif reaksiyon (alkalin, mor veya kırmızı)
- = negatif reaksiyon (asit, sarı)

Bazal besiyeri her iki organizma ile negatiftir.

*Kullanıcı tarafından Kalite Kontrolü için tavsiye edilen organizma.

III EK KALİTE KONTROLÜ

- Tüpleri "Ürünün Bozulması" altında tanımlandığı şekilde inceleyin.
- Mevcut olan herhangi bir fiziksel bozukluğun kullanımı etkilemeyeceğinden emin olmak için temsili tüpleri görsel olarak inceleyin. Lot dahilinde hafif renk varyasyonları gözlemlenebilir. Bu renk varyasyonu performansı etkilemez.
- 6,0 $\pm$ 0,2 spesifikasyonuna uyması için pH değerini oda sıcaklığında potansiyometrik olarak belirleyin.
- Inoküle 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

Moeller Decarboxylase (Moeller Dekarboksilaz) besiyerleri, lizin ve ornitin dekarboksilaz üretimi temelinde gram negatif enterik basillerin biyokimyasal ayrıştırılmasında kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

1955'te, Moeller lizin ve ornitin dekarboksilaz üretimini saptamak için dekarboksilaz besiyerlerini tanıtmıştır.¹ Bu besiyerleri *Enterobacteriaceae* ve diğer gram-negatif basillerin özelleştirilmesi ve tanımlanması için diğer biyokimyasal testlerle birlikte yararlıdır.²⁻⁴ Ornitin dekarboksilazın üretilmesi özellikle *Klebsiella* ve *Enterobacter* türlerinin ayrıştırılması için yararlıdır. *Klebsiella* türleri motil değildir ve *K. ornithinolytica* için hariç, ornitin dekarboksilaz üretmez, bununla birlikte çoğu *Enterobacter* türü motildir ve *E. agglomerans* için hariç genellikle bu enzimi üretirler.⁴

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Moeller Decarboxylase (Moeller Dekarboksilaz) bazal besiyeri, bakteriyel gelişimi desteklemek için gerekli olan azotlu besinleri sağlamak için peptone ve sığır eti ekstraktını içerir. Piridoksal, amino asit dekarboksilazı için bir enzim kofaktörüdür. Dekstrozu fermente olabilen bir karbonhidrattır. Bromkresol mor ve kresol kırmızı pH endikatörleridir. Amino asitler lizin ve ornitin, bu substratlar için spesifik enzimin üretimini saptamak için bazal besiyerine eklenir.

Besiyeri, dekstrozu fermente edebilen bir bakteriyle inoküle edildiğinde, besiyerinin pH'ını alçaltan ve endikatörün rengini mordan sarıya çeviren asitler üretilir. Asidik koşul da dekarboksilaz aktivitesini stimüle eder. Organizma uygun enzimi üretirse, karşılık gelen bir amin üreterek besiyerindeki amino asidin derecesi düşer. Lisinin dekarboksilasyonu kadaverin verir, ornitinin dekarboksilasyonu putreskin verir. Bu aminlerin üretimi, endikatörün rengini sarıdan mora veya eflatuna çevirerek besiyerinin pH'ını yükseltir. Organizma uygun enzimi üretmezse, besiyeri asidik (sarı) kalır. Daha fazla bilgi için ilgili referansa bakın.⁵

Test edilecek her bir izolat, amino asit içermeyen bir bazal besiyeri tüpüne de inoküle edilmelidir. Bu tüp alkaline olursa, test geçersizdir.

İlgili reaksiyonları elde etmek için, inoküle edilen tüpler steril bir mineral yağ katmanı ile havadan korunmalıdır. Havaya maruziyet besiyerinin yüzeyinde alkalinizasyona neden olabilir, bu da bir dekarboksilaz-negatif organizmanın pozitif görünmesine neden olabilir.

VII REAKTİFLER

Moeller Decarboxylase Broth Base

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

Hayvan Dokularının Peptik Dijesti	5,0 g	Kresol Kırmızısı	0,005 g
Siğir Eti Ekstraktı	5,0 g	Dekstroz	0,5 g
Bromkresol Moru	0,01 g	Piridoksal	0,005 g

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

Moeller Decarboxylase Broth with Lysine veya Ornithine belirtilen amino asidin 10,0 g/L'si ile Moeller Decarboxylase Broth Base'den (Moeller Dekarboksilaz Broth Bazı) oluşur.

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.

Kullanımdan sonra, hazırlanan tüpler, örnek kapları ve diğer kontamine malzemeler atılmadan önce otoklavlanarak sterilize edilmelidir.

Saklama Talimatları: Alındıktan sonra, tüpleri karanlıkta 2 ila 8 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve aşırı ısıtmaktan kaçının. Kullanıma hazır olana kadar açmayın. İşğe 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.^{3,6} Örneklerin laboratuvara hızlı bir şekilde ulaştırılması için gerekli düzenlemeler yapılmalıdır.

IX PROSEDÜR

Sağlanan Malzemeler: Moeller Decarboxylase Broth with Lysine veya Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine

Gerekli Fakat Sağlanmamış Malzemeler: Yardımcı kültür besiyeri, reaktifler, kalite kontrol organizmaları ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

İzole edilmiş koloniler elde etmek için sürme yöntemi ile ekim yaparak, test edilecek izolata uygun bir besiyerinde alt kültürleyin ve 18–24 s boyunca 35 ± 2 °C'de inkübe edin.

Bir inokülasyon özesi veya iğne ile taze bir kültürün yüzeyinden bir veya iki koloni aktararak broth besiyerlerini inoküle edin ve besiyeri boyunca kültürü dağıtmak için karıştırın. 1 mL steril mineral yağla her bir tüpteki besiyerinin üzerini kaplayın.

Tüpleri, kapakları sıkılmış bir halde 35 ± 2 °C'de inkübe edin. Negatif olarak bildirmeden önce 18–24, 48, 72 ve 96 s sonra gelişim ve dekarboksilaz reaksiyonları açısından inceleyin. Dekstroz fermentasyonu olursa besiyeri ilk olarak sarı haline gelir ve ardından dekarboksilaz reaksiyon meydana gelirse ve pH'ı yükseltirse dereceli olarak mora döner.

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.

Tüpe koyulmuş besiyerinin pH değerini potansiyometrik olarak belirlemek için tüplere oturacak şekilde yeterince küçük boyutta tek bir elektrot kullanılmalıdır. Elektrotun ucu, broth besiyerinin yüzeyinin altına yerleştirilmelidir.

X SONUÇLAR

Spesifik amino asitleri içeren besiyerlerinin tüplerinin rengini, aynı izolatla inoküle edilmiş bazal besiyerlerinin kontrol tüplerinin rengiyle (amino asit olmaksızın) karşılaştırın. İnoküle edilmiş kontrol tüpleri bir alkaline reaksiyon gösterirse, test geçersizdir, yani ya yanlış gerçekleştirilmiştir veya test organizmaları spesifik bir amino asidin olmaması durumunda alkaline reaksiyon üretmek için peptonu yeterli derecede geriletebilir.

Reaksiyon pozitifse (alkalin) besiyeri mordan eflatun haline gelir. Sarı renk negatif bir testi belirtir; yani, organizma ilgili enzimi üretmez.

Sonuçların yorumlanması için gerekli bilgiler için ilgili metinlere bakın.³⁻⁶

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.^{3,4,6,7}

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Yabuuchi, Yamanaka ve Ohya tarafından, Minitek Sistemi ile birlikte nonfermenterlerin tanımlanması için yeni bir profil sistemi geliştirmek üzere yapılan bir çalışmada, kontrol olarak Moeller Decarboxylase besiyerleri kullanılmıştır. Altı yüz yirmi beş (625) nonfermenter suşu test edilmiştir. Moeller Decarboxylase with Lysine ve Minitek Sistemi arasındaki anlaşma %95,4 olmuştur. Moeller Decarboxylase with Ornithine ve Minitek Sistemi arasındaki anlaşma %90,9 olmuştur.⁸

Başka bir çalışmada, Westbrook ve ark. Moeller Decarboxylase with Ornithine'i 352 stok izolatında ve 84 taze klinik *Klebsiella* sp. örneğinde *Klebsiella planticola* ve *K. oxytoca* insidansını belirlemek için bir tanımlama şeması parçası olarak kullanmıştır.⁹

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No.	Açıklama
221661	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine, 10'lu boyut K tüp paketi
221662	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine, 100'lü boyut K tüp kutusu
221663	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine, 10'lu boyut K tüp paketi
221664	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine, 100'lü boyut K tüp kutusu

XIV REFERANSLAR

1. Moeller, V. 1955. Simplified tests for some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.* 36:158-172.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. 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.
5. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
6. 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.
7. 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.
8. Yabuuchi, E., K. Yamanaka, and A. Ohya. 1981. Evaluation of 36 Minitek tests and a new approach for identification of nonfermenters. *J. Clin. Microbiol.* 13:572-587.
9. Westbrook, G.L., C.M. O'Hara, S.B. Roman, and J.M. Miller. 2000. Incidence and identification of *Klebsiella planticola* in clinical isolates with emphasis on newborns. *J. Clin. Microbiol.* 38:1495-1497.

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 and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD