BD Yersinia Selective Agar (CIN Agar) • BD Aeromonas Yersinia Agar

PRZEZNACZENIE

BD Yersinia Selective Agar (=CIN Agar, Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin Agar) jest selektywnym, różnicującym podłożem przeznaczonym do izolowania *Yersinia enterocolitica*, a **BD Aeromonas Yersinia Agar** jest selektywnym, różnicującym podłożem przeznaczonym do izolowania zarówno *Yersinia enterocolitica*, jak i *Aeromonas* spp. z różnych próbek pochodzenia klinicznego i nieklinicznego.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

Podłoże **BD Yersinia Selective Agar** zostało po raz pierwszy opisane przez Schiemanna jako alternatywa dla agaru MacConkey'a i innych podłoży często stosowanych do izolowania *Yersinia enterocolitica*, czynnika etiologicznego zapalenia żołądka i jelit.[1] Podłoże to zostało uznane za lepsze niż agar MacConkey'a, SS, CAL oraz Y.[2] **BD Aeromonas Yersinia Agar** jest zmodyfikowanym podłożem **BD Yersinia Selective Agar**, które – oprócz *Yersinia enterocolitica* – promuje także wzrost bakterii z rodzaju *Aeromonas* (mogący również być przyczyną zapalenia jelit) dzięki zredukowanej zawartości cefsulodyny.[3,4]

W obu podłożach źródłem składników odżywczych są peptony. Fermentacja mannitolu w obecności czerwieni obojętnej powoduje powstanie na obu podłożach charakterystycznych kolonii *Y. enterocolitica* o wyglądzie „byczego oka", bezbarwnych z czerwonymi środkami. Selektywne zahamowanie drobnoustrojów Gram-ujemnych i Gram-dodatnich uzyskuje się dzięki fioletowi metylowemu, dezoksycholanowi sodu oraz antybiotykom, takim jak cefsulodyna, Irgasan® (triklosan) i nowobiocyna. Na podłożu **BD Aeromonas Yersinia Agar** rodzaj *Aeromonas* tworzy blade kolonie z różowym lub czerwonym środkiem, podobnie jak w przypadku *Yersinia*. Oba drobnoustroje można odróżnić od siebie na podstawie reakcji oksydazowej (która jest dodatnia tylko w przypadku *Aeromonas*).[3-5]

Podłoża **BD Yersinia Selective Agar** i **BD Aeromonas Yersinia Agar** mogą być także wykorzystywane do izolowania gatunków z rodzaju *Yersinia* innych niż *Y. enterocolitica*, np. *Y. pseudotuberculosis.*[5]

ODCZYNNIKI

Skład* w przeliczeniu na jeden litr wody oczyszczonej

BD Yersinia Selective Agar

Trzustkowy hydrolizat żelatyny	10,0 g	Siarczan (VI) magnezu	0,001 g
Hydrolizat pepsynowy tkanki zwierzęcej	5,0	Fiolet metylowy	0,001
Wyciąg wołowy	5,0	Czerwień obojętna	0,03
Wyciąg drożdżowy	2,0	Cefsulodyna	0,015
Mannitol	20,0	Irgasan	0,004
Pirogronian sodu	2,0	Nowobiocyna	0,0025
Chlorek sodu	1,0	Agar	12,0
Dezoksycholan sodu	0,5		

pH 7,4 ± 0,2

W odróżnieniu od podłoża **BD Yersinia Selective Agar**, które zawiera 0,015 g cefsulodyny, **BD Aeromonas Yersinia Agar** zawiera tylko 0,004 g cefsulodyny na jeden litr podłoża.

*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych.
Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne zjawiska wskazujące na pogorszenie jakości. Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**.

PRZECHOWYWANIE I DOPUSZCZALNY OKRES PRZECHOWYWANIA

Po otrzymaniu, płytki należy przechowywać w ciemnym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C, w ich oryginalnym opakowaniu izolującym do chwili użycia. Unikać zamrażania i przegrzewania. Posiewu na płytki można dokonywać aż do daty ważności (patrz etykieta na opakowaniu) i inkubować w zalecanych czasach inkubacji.
Płytek z otwartych stosów zawierających po 10 płytek można używać przez okres jednego tygodnia, przechowując w czystym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Podłoża zaszczepia się reprezentatywnymi próbkami wymienionych szczepów (szczegółowe informacje – zobacz dokument **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**). Płytki inkubować w atmosferze tlenowej, w temperaturze 25 ± 2°C lub 35 ± 2°C. Odczytu dokonuje się po 20–24 godzinach oraz po 42–48 godzinach.

Szczepy bakteryjne	BD Yersinia Selective Agar (CIN Agar)	BD Aeromonas Yersinia Agar
Aeromonas hydrophila ATCC 7966	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu	Wzrost dość dobry lub dobry; kolonie bezbarwne do bladoróżowych z różowym lub czerwonym środkiem
Yersinia enterocolitica ATCC 9610	Wzrost dobry lub bardzo dobry; kolonie bladoróżowe z ciemnoczerwonym środkiem (kolonie o wyglądzie „byczych oczu”)*	Wzrost dobry lub bardzo dobry; kolonie bladoróżowe z ciemnoczerwonym środkiem (kolonie o wyglądzie „byczych oczu”)*
Escherichia coli ATCC 25922	Całkowite zahamowanie wzrostu	Całkowite zahamowanie wzrostu
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu
Proteus mirabilis ATCC 14153	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu, dopuszczalny dość dobry wzrost
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu
Bez posiewu	Jasnoróżowe, nieznacznie opalizujące	

* Po 42–48 godzinach inkubacji kolonie mogą być całe różowe.

PROCEDURA

Dostarczane materiały
Podłoże **BD Yersinia Selective Agar (CIN Agar)** lub **BD Aeromonas Yersinia Agar**, oba dostarczane na płytkach **Stacker** o śr. 90 mm. Sprawdzane pod kątem obecności mikroorganizmów.

Materiały niedostarczane
Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Typy próbek
BD Yersinia Selective Agar jest selektywnym, różnicującym podłożem przeznaczonym do izolowania *Yersinia enterocolitica*, a **BD Aeromonas Yersinia Agar** jest selektywnym, różnicującym podłożem przeznaczonym do izolowania *Aeromonas* spp. i *Yersinia enterocolitica* z próbek kału ludzkiego i wymazów z odbytu (zobacz także **CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI I OGRANICZENIA PROCEDURY**).

Procedura testowa
Wykonać posiew próbki możliwie jak najszybciej po dostarczeniu materiału do laboratorium. Płytka do posiewu służy przede wszystkim do izolowania czystych kultur z próbek zawierających florę mieszaną. Ewentualnie, jeżeli materiał jest hodowany bezpośrednio z wymazówki, można przetoczyć wymazówkę po niewielkiej powierzchni na krawędzi płytki, a następnie wykonać posiew poprzez rozprowadzenie materiału po podłożu.
Wzrost bakterii z rodzajów *Aeromonas* i *Yersinia* obserwuje się w temperaturze od 25 do 37°C. Niższa temperatura jest optymalna dla *Yersinia* i jest ona zalecana do pierwszej izolacji. Płytki inkubuje się w temperaturze 25–32°C przez 24–48 godz.

Należy także wykonać posiew na podłożu mniej selektywnym, takim jak **BD MacConkey II Agar** (prowadząc inkubację w temperaturze 35 ± 2°C) w celu wykrycia innych drobnoustrojów powodujących zakażenie.
W rzadkich przypadkach do izolacji *Yersinia enterocolitica* z próbek kału i innych materiałów, takich jak pokarm, może być konieczna procedura „zimnego wzbogacenia". W procedurze tej należy wykonać posiew około 1 g próbki w 8–12 ml roztworu fizjologicznego buforowanego fosforanem (pH 7,2) i przechowywać próbkę w temperaturze 4°C przez okres do 21 dni.[5,6] Wzbogacenie *Aeromonas* można przeprowadzić w wodzie z peptonem zasadowym.[4,7] Okresowo należy wykonywać hodowlę pochodną z wzbogaconego posiewu na płytki z którymkolwiek z podłoży opisanych w niniejszym dokumencie w celu wyizolowania bakterii. Płytki należy inkubować zgodnie z przedstawionym powyżej opisem.

Wyniki
Typowe kolonie *Yersinia enterocolitica* na podłożu **BD Yersinia Selective Agar** lub **BD Aeromonas Yersinia Agar** po 24 godzinach inkubacji posiadają ciemnoczerwone środki otoczone przejrzystym, bladym obrzeżem, co nadaje im wygląd „byczych oczu". Po 42–48 godzinach inkubacji kolonie często są całe różowe. W koloniach *Yersinia pseudotuberculosis* zazwyczaj nie występuje przejrzysta strefa wokół kolonii. *Aeromonas* tworzy bledsze kolonie, które także posiadają różowy lub czerwony środek i wykazują dodatnią reakcję na oksydazę. *Aeromonas* można łatwo odróżnić od *Yersinia* i innych *Enterobacteriaceae* za pomocą standardowego testu oksydazowego (dodatni wynik występuje tylko w przypadku *Aeromonas* spp.). Pełna identyfikacja podejrzanych izolowanych szczepów wymaga potwierdzenia biochemicznego i serologicznego.

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY
Podłoża **BD Yersinia Selective Agar** i **BD Aeromonas Yersinia Agar** służą do izolowania *Yersinia enterocolitica* z próbek kału ludzkiego i innych materiałów.[1,2,5-8] Ponadto podłoże **BD Aeromonas Yersinia Agar** jest wykorzystywane do izolowania *Aeromonas*.[3-5, 7,8]
Wprawdzie hodowle *Yersinia* można uzyskać przez bezpośredni posiew na płytce, jednak próbki zawierające małą liczbę zdolnych do życia bakterii mogą wymagać tzw. zimnego wzbogacenia (4°C) w roztworze fizjologicznym buforowanym fosforanem.[5,7] Procedura zimnego wzbogacenia może jednak nie być wskazana ze względu na długi czas inkubacji, a także selektywności dla niepatogennych szczepów *Y. enterocolitica* i innych gatunków *Yersinia*.[5]
Wzbogacenie *Aeromonas* w wodzie z peptonem zasadowym może być pomocne przy izolowaniu drobnoustrojów z populacji, w których występuje mała liczba bakterii, np. pochodzących od nosicieli lub pacjentów w fazie rekonwalescencji.[4,7]

Na obu opisywanych podłożach obserwuje się także wzrost innych gatunków *Yersinia*, takich jak *Y. pseudotuberculosis*, *Y. frederiksenii* oraz *Y. intermedia*.[5] potencjał patogenny tych dwóch ostatnich gatunków jest kontrowersyjny, lecz na obecnym etapie badań drobnoustrojów tych nie należy lekceważyć.[5]
Skład podłoża **BD Aeromonas Yersinia Agar**, w odróżnieniu od **BD Yersinia Selective Agar**, jest zalecany do selektywnej izolacji *Yersinia pestis*.[5]
Na opisywanych podłożach czasem obserwuje się wzrost bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* innych niż *Yersinia*, zwłaszcza rodzaju *Citrobacter*. Kolonie *Serratia* i *Citrobacter* nie zawsze można z całą pewnością odróżnić od kolonii *Yersinia* na podstawie samej ich morfologii. W związku z tym, potwierdzenie i pełna identyfikacja izolowanych szczepów wymaga wykonania testów biochemicznych i serologicznych.

Na podłożu **BD Aeromonas Yersinia Agar** czasem obserwuje się słaby wzrost pewnych szczepów *Aeromonas*. Do uzyskania hodowli całej populacji tych drobnoustrojów zaleca się użycie dodatkowego podłoża do ich izolacji.

PIŚMIENNICTWO

1. Schiemann, D.A. 1979. Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica.* Can. J. Microbiol. 25:1298-1304.
2. Head, C.B., D.A. Whitty, and S. Ratnam. 1982. Comparative study of selective media for recovery of Yersinia enterocolitica. J. Clin. Microbiol. 16:615-621.
3. Altorfer, R., et al. 1985. Growth of *Aeromonas* spp. on cefsulodin-irgasan-novobiocin agar selective for *Yersinia enterocolitica*. J. Clin. Microbiol. 22: 478-480.
4. Abbott, S.L. 2003. *Aeromonas*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Bockemühl, J., and J.D. Wong. 2003. *Yersinia*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Weissfeld, A.S. and A.C. Sonnenwirth. 1982. Rapid isolation of *Yersinia* spp. from feces. J. Clin. Microbiol. 15:508-510.
7. Kist, M., et al. 2000. Infektionen des Darmes. In: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gatermann (eds.): MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 9. Urban & Fischer, Munich, Germany.
8. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.

PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

BD Yersinia Selective Agar (CIN)

Nr katalogowy 254056	Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, cpu 20
Nr katalogowy 254088	Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, cpu 120

BD Aeromonas Yersinia Agar

Nr katalogowy 254443	Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, cpu 20

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy się skontaktować z lokalnym przedstawicielem firmy BD.

Becton Dickinson GmbH
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

http://www.bd.com
http://www.bd.com/europe/regulatory/

Irgasan is a registered trademark of Ciba Specialty Chemicals
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD