BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)

KULLANIM AMACI

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate) (**BD DCLS Agar, Modifiye Edilmiş / Hektoen Enterik Agar (Çift Plak)**) insan dışkı örneklerinden *Salmonella* ve *Shigella* izolasyonu için kullanılır.

PROSEDÜR İLKELERİ VE AÇIKLAMASI

Mikrobiyolojik yöntem.

DCLS Agar, Modified, Leifson tarafından tanımlanan Desoxycholate Citrate Agar besiyerlerinin bir modifikasyonudur.[1] Laktoz veya sükrozu fermente edebilen koliform organizmalar genel olarak inhibe edilmiştir. Gram pozitif bakteriler baskılanmıştır. Endo besiyeri üzerinde enterik patojenleri çalışırken, Holt-Harris ve Teague, metilen mavisi ve eozin içeren nutrient agar geliştirilmesinde laktoz ve sükroz kullanmıştır. Bazı koliformlar sükrozu laktozdan daha hızlı fermente eder.[2] Sükroz (sakaroz) eklenmesi, hatalı pozitif reaksiyonların sayısını azaltarak patojenik olmayan sükrozu fermente eden organizmaların kolaylıkla tanınan gül rengi-kırmızı (pembe) koloniler oluşturmasına olanak sağlar.
DCLS Agar'ın orijinal formülünün çeşitli modifikasyonları mevcuttur.[3,4] Bu besiyeri formülü daha çok laktoz ve sükroz ve daha az sitrat içerir ve bu sebeple *Shigella* gelişimini normal DCLS Agar'dan biraz daha iyi destekler. Ayrıca, *Yersinia enterocolitica'*nın saptanmasına izin verir. Modifiye Edilmiş DCLS Agar'da, et ekstraktı ve pepton azot sağlar ve maya ekstraktı vitaminleri sağlar. Laktoz ve sakaroz (sükroz), *Salmonella* ve *Shigella* değil fakat *Escherichia coli* gibi patojenik olmayan birçok Gram negatif çubuk tarafından kullanılan fermente edilebilir karbonhidratlardır. Sodyum sitrat, sodyum tiyosülfat ve sodyum desoksikolat seçici ajanlardır. Nötral kırmızı, pH indikatörüdür.

Hektoen Enteric Agar (HEA) 1967'de Hektoen Institute'de King ve Metzger tarafından 1967'de *Shigella* ve *Salmonella* organizmalarının izolasyonunu o zamanlar sıklıkla kullanılan diğer besiyerlerine kıyasla geliştirmek için geliştirilmiştir.[5] Bu besiyeri orta düzeyde seçici olarak kabul edilmiştir ve *Shigella* türlerinin izolasyonunda özellikle faydalıdır. Mevcut formülasyonda, orijinal formülasyondaki sodyum desoksikolat elimine edilmiş ve safra tuzlarının konsantrasyonu azaltılmıştır. Ayrıca, safra tuzlarının inhibitör etkilerini dengelemek için pepton konsantrasyonu artırılmıştır.[3] Safra tuzları, Gram pozitif organizmaları inhibe ederek ve *Salmonella* ve *Shigella* dışındaki bazı gram-negatif bakterilerin gelişimini azaltarak besiyerini seçici hale getirir. Laktoz, sükroz ve salisin, koloni ve kolonilere yakın besiyerinin rengi ile optimal ayrıştırma için dahil edilir. *Salmonella* ve *Shigella* bu karbon bileşiklerini fermente etmez ve bu sebeple pH indikatör sisteminin renginin değişmesine neden olmazken bu bileşiklerin bir veya birkaçını asitlere fermente eden organizmalar örn. *E. coli*, sarı, turuncu veya pembemsi renk değişimine neden olur. Besiyerindeki ferrik amonyum sitrat ve sodyum tiyosülfat *Salmonella* tarafından hidrojen sülfit üretiminin saptanmasını olanaklı kılar. pH indikatör sistemi asit fuksin ve bromtimol mavisi içerir. Bu formülasyon, dışkı örneklerinden *Enterobacteriaceae* kültürü için çeşitli plak besiyerlerinden biri olarak önerilmektedir.[6-8]

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate) (**BD DCLS Agar, Modifiye Edilmiş / Hektoen Enterik Agar (Çift Plak)**) insan dışkısından *Salmonella* ve *Shigella* izolasyonu için iki seçici diferansiyel besiyerinin bir kombinasyonudur.

REAKTİFLER

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)
1 Litre Saf Su için Formüller*

DCLS Agar, Modified		Hektoen Enteric Agar	
Et Peptonu (Pankreatik)	5,0 g	Hayvan Dokularının Peptik Dijesti	12,0 g
Maya Ekstraktı	2,5	Maya Ekstraktı	3,0
Et Ekstraktı	2,5	Safra Tuzları	9,0
Laktoz	10,0	Laktoz	12,0
Sükroz	10,0	Sükroz	12,0
Ferrik Amonyum Sitrat	1,0	Salisin	2,0
Sodyum Desoksikolat	2,5	Sodyum Klorür	5,0
Sodyum Tiyosülfat	5,0	Sodyum Tiyosülfat	5,0
Sodyum Sitrat	1,0	Ferrik Amonyum Sitrat	1,5
Nötral Kırmızı	0,02	Bromtimol Mavisi	0,064
Agar	10,0	Asit Fuksin	0,1
pH 7,5 +/- 0,2		Agar	13,5
		pH 7,6 +/- 0,2	

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

ÖNLEMLER

IVD . Yalnızca profesyonel kullanım içindir.
Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma, çatlama veya diğer bozulma belirtileri görülen plakları kullanmayın.
Aseptik kullanım prosedürleri, biyolojik tehlikeler ve kullanılmış ürünün atılmasıyla ilgili olarak **GENEL KULLANIM TALİMATLARI**'na bakın.

SAKLAMA VE RAF ÖMRÜ

Alındıktan sonra plakları kullanana kadar orijinal kaplı ambalajında karanlıkta 2 ila 8 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve aşırı ısıtmaktan kaçının. Plaklar son kullanma tarihine kadar (ambalaj etiketine bakın) ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir.
10 plaklık açılmış yığınlardan alınan plaklar temiz bir alanda, 2 ila 8 °C'de saklandığında bir hafta kullanılabilir.

KULLANICI TARAFINDAN KALİTE KONTROLÜ

Temsili örnekleri aşağıdaki suşlar ile inoküle edin (detaylar için, bkz. **GENEL KULLANIM TALİMATLARI** belgesi). Plakları 35 ± 2 °C'de aerobik atmosferde inkübe edin. Zaman zaman, *Shigella* türleri 42 ila 48 saat inkübasyon gerektirebilir.
18 ila 24 ve 42 ila 48 saat sonra plakları, gelişim miktarı, koloni boyutu, pigmentasyon ve seçicilik açısından inceleyin.

Suşlar	DCLS Agar, Modified	Hektoen Enteric Agar
Escherichia coli ATCC 25922	Gelişme yok veya orta düzey gelişme; gül kırmızısı (pembe) koloniler, koloniler etrafında çökeltiler olabilir	Kısmi ila tam inhibisyon; sarı-turuncu koloniler, kolonilerin etrafında çökeltiler olabilir, pembemsi ila turuncu haleler
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Tam inhibisyon	Kısmi ila tam inhibisyon; küçük sarı koloniler, pembemsi ila turuncu haleler
Proteus mirabilis ATCC 12453	Turuncu-kırmızı koloniler; orta ila iyi gelişim	Siyah merkezleri olan mavi-yeşil ila mavi
Salmonella Abony DSM 4224	Turuncu kırmızı ila sarı koloniler; iyi ila mükemmel gelişim	İyi ila mükemmel gelişim; siyah merkezli yeşil ila mavimsi-yeşil koloniler
Salmonella Typhi-murium ATCC 14028	Turuncu kırmızı ila sarı koloniler; iyi ila mükemmel gelişim	İyi ila mükemmel gelişim; siyah merkezli yeşil ila mavimsi-yeşil koloniler
Shigella flexneri ATCC 12022	Turuncu kırmızı ila sarı koloniler; orta ila mükemmel gelişim	Orta ila mükemmel gelişim; hafif yeşil koloniler
İnoküle edilmemiş	Turuncu-kırmızı, hafif opalesan	Yeşil, hemen hemen şeffaf

PROSEDÜR

Sağlanan Malzemeler

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (90 mm **Stacker** çift plaklar). Mikrobiyolojik açıdan kontrol edilmiştir.

Sağlanmayan Malzemeler

Yardımcı kültür ortamı, reaktifler ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Örnek Türleri

Bu besiyeri, bakteriyel enterik enfeksiyona sahip olduğundan şüphelenilen hastalardan alınan dışkı örnekleri ve benzer maddeler (örn., rektal swablar) için kullanılır (aynı zamanda bkz. **PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR**).[7,8]

Test Prosedürü

Örnek laboratuvara ulaştığında olabildiğince kısa sürede örneği bu çift plağın her iki besiyerine de sürme yöntemi ile ekin. Sürme plak, temel olarak karışık flora içeren örneklerden saf kültürleri izole etmek için kullanılır. Alternatif olarak, eğer materyal doğrudan swabdan geliştirilecekse, swabı kenarların yüzeyinde küçük bir alanın üzerinde döndürün; ardından izolasyon için inoküle edilmiş alanlardan sürme yöntemi ile ekim yapın.
Gram negatif organizmaların popülasyonu düşük olduğunda geri kazanma şansını artırmak için ve örnekte diğer organizmaların bulunduğunu göstermek için **BD MacConkey II Agar** gibi daha az seçici bir besiyeri ve Selenite F Broth gibi seçici sıvı zenginleştirme besiyerleri de inoküle edilmelidir. Klinik örneklerden enterik patojenlerin izolasyonu ve tanımlanması hakkında kapsamlı bir açıklama için uygun referanslarda tanımlanan prosedürlere bakın.[6-8]
BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate) Selenite F Broth'dan alt kültür oluşturma için besiyeri olarak kullanılabilir.
Plakları ışıktan koruyarak 35 ± 2 °C'de 18 ila 24 saat inkübe edin. Negatifse, 18 ila 24 saat daha yeniden inkübe edin.

Sonuçlar

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate) üzerinde tipik gelişim görünümü aşağıdaki gibidir:

Organizmalar	DCLS Agar, Modified	Hektoen Enteric Agar
E. coli	Safra çökeltisi zonu olan geniş, düz, pembe ila kırmızı	Geniş, sarı ila pembemsi renkli; bazı suşlar inhibe olabilir
Enterobacter/Klebsiella	geniş, mükoid, pembe	Geniş, sarı ila pembemsi renkli
Proteus	Renksiz ila kırmızı	Değişken, mavimsi-yeşil ila mavi veya pembe, çoğu suşun merkezi siyahtır
Salmonella	Renksiz ila soluk pembe	Mavi-yeşil ila mavi; çoğu suşun merkezi siyahtır
Shigella	Renksiz ila soluk pembe	Yeşil ve nemli, kabarık
Pseudomonas	Renksiz ila kahverengi veya yeşil	Düzensiz, yeşil ila kahverengi
Gram pozitifler	Gelişim yok	Gelişim yok veya az gelişme

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate) (**BD DCLS Agar, Modifiye Edilmiş / Hektoen Enterik Agar (Çift Plak)**) insan dışkı örneklerinden ve rektal swablardan *Salmonella* ve *Shigella* izolasyonu için kullanılır.[3,6-9]
Bir örnekteki patojenlerin sayısı düşükse, seçiciliği yüksek bir besiyerinde gözden kaçırılabilirler. Daha düşük derecede seçiciliğe sahip bir besiyerinin örn., **BD MacConkey II Agar** ve/veya sıvı seçici zenginleştirme kullanılması önerilir.[6-8]
Proteus mirabilis kolonileri bu besiyerlerinde *Salmonella*'ya benzeyebilir.
Belirli *Shigella* suşları inkübasyon için 42 ila 48 saate ihtiyaç duyabilir.

Belirli tanı testleri doğrudan bu besiyerlerinde gerçekleştirilebilmesine rağmen, tam tanımlama için saf kültürlerin kullanıldığı biyokimyasal ve belirtilmişse immünolojik test gereklidir. *Salmonella* veya *Shigella* olduğundan şüphelenilen koloniler serolojik olarak doğrulanmalı ve tanımlanmalıdır. [6]
Organizmaların besin gereksinimleri değiştiğinden, bu besiyerinde gelişmeyen veya zayıf gelişen bazı suşlara rastlanabilir.

REFERANSLAR

1. 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. 40:581-599.
2. Holt-Harris, J. E., and O. Teague. 1916. A new culture medium for the isolation of Bacillus typhosus from stools. J. Infect. Dis. 18:596-601.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria. vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Hajna, A. A., and S. R. Damon. 1956. New enrichment and plating medium for the isolation of *Salmonella* and *Shigella* organisms. Appl. Microbiol. 4: 341.
5. King, S., and W.I. Metzger. 1968. A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. I. Hektoen enteric agar. Appl. Microbiol. 16:577-578.
6. Bopp, C.A., Brenner, F.W., Fields, P.I., Wells, J.G., and N.A. Strockbine. 2003. *Escherichia, Shigella,* and *Salmonella. 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.
7. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol.1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. *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.
9. 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.

AMBALAJ/TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)

Kat. No. 254553	Kullanıma Hazır Plak Besiyeri, cpu 20

EK BİLGİ

Daha fazla bilgi için lütfen yerel BD temsilcinizle temasa geçin.

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/

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company
© 2011 BD