

**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ**

Τριχοτομημένο τρυβλίο S.S. AGAR – HEKTOEN ENTERIC AGAR - XLD AGAR Για την καλλιέργεια εκλεκτική απομόνωση και ταυτοποίηση των *Salmonella*, *Shigella* & *Enterobacteria*..

**ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Στο S.S. AGAR το Beef Extract και το Balanced Peptone No. 1 παρέχουν άζωτο, βιταμίνες, μέταλλα και αμινοξέα απαραίτητα για την ανάπτυξη. Η λακτόζη είναι ο ζυμώσιμος υδατάνθρακας που παρέχει άνθρακα και ενέργεια. Μείγμα Bile Salts No. 3, Sodium citrate και Brilliant Green αναστέλλουν τα Θετικά (+) κατά Gram βακτήρια, τα περισσότερα κολοβακτηρίδια και μερικούς *Proteus spp.* Επιτρέποντας παράλληλα την ανάπτυξη της *Salmonella spp.*

Το Neutral Red είναι ο δείκτης του pH. Το Sodium thiosulphate και το Ferric citrate επιτρέπουν την ανίχνευση του H<sub>2</sub>S που παράγουν βακτήρια, όπως ο *Proteus* και ορισμένα στελέχη της Σαλμονέλας, καθώς παράγουν αποικίες με μαύρα κέντρα και καθαρό φωτισμένο.

Τα βακτήρια που δεν ζυμώνουν τη λακτόζη (υποτιθέμενα παθογόνα) παράγουν διαυγείς αποικίες, διαφανείς ή άχρωμες, ενώ τα κολοβακτηρίδια παρεμποδίζονται επαρκώς και σχηματίζουν μικρές αποικίες που ποικίλλουν από ροζ σε κόκκινο χρώμα. Η σύνθεση αυτή είναι ιδιαίτερα εκλεκτική, και δεν συνιστάται για την πρωταρχική απομόνωση της *Shigella*. Ορισμένοι στελέχοι *Shigella spp.* Μπορεί να μην αναπτυχθούν.

<b>ΣΥΝΘΕΣΗ S.S. AGAR</b>	<b>g/litre</b>
Beef Extract	5.0
Balanced Peptone No. 1	5.0
Lactose	10.0
Bile Salts No. 3	8.5
Sodium citrate	8.5
Sodium thiosulphate	8.5
Ferric citrate	1.0
Brilliant Green	0.00033
Neutral Red	0.025
Agar No. 2	13.5

Εμφάνιση: Κόκκινο - Ροζ διαυγές,

Τελικό pH 7.4 ± 0.2. στους 25 °C

Το HEKTOEN ENTERIC AGAR είναι ένα εκλεκτικό υλικό που χρησιμοποιείται για την απομόνωση και διαφοροποίηση των εντεροπαθογόνων όπως η *Salmonella* και η *Shigella*, οι οποίες προκαλούν ποικίλες σοβαρές γαστρεντερικές παθήσεις στον άνθρωπο.

Για την ανάπτυξη παρέχονται η Peptone Meat και το Yeast Extract. Η αυξημένη περιεκτικότητα της πεπτόνης και των τριών σακχάρων (Lactose, Sucrose, Salicin) ως πηγές άνθρακα και ενέργειας, μειώνουν την ανασταλτική δράση των χολικών αλάτων No. 3 σε *Salmonella* και *Shigella spp.* Η συγκέντρωση λακτόζης στο HEKTOEN ENTERIC AGAR είναι υψηλότερη από ό, τι σε άλλα υλικά που έχουν την ίδια χρήση. Αυτό βοηθά στην απεικόνιση των εντεροπαθογόνων βακτηριδίων και ελαχιστοποιεί το πρόβλημα της καθυστέρησης ζύμωσης λακτόζης. Το Bromothymol blue και η Acid fuchsin είναι δείκτες pH. Το Sodium thiosulphate παρέχει θείο, και Το Ammonium ferric citrate είναι ο δείκτης για την παραγωγή H<sub>2</sub>S. Οι Θετικές ως προς το H<sub>2</sub>S αποικίες είναι μαύρες. Το χλωριούχο νάτριο παρέχει απαραίτητους ηλεκτρολύτες διατηρεί την ωσμωτική ισορροπία.

Το Βακτηριολογικό Agar είναι ο στερεοποιητικός παράγοντας.

<b>ΣΥΝΘΕΣΗ HEKTOEN ENTERIC AGAR</b>	<b>g/litre</b>
Meat Peptone	12.0
Yeast Extract	3.0
Lactose	12.0
Sucrose	12.0
Salicin	2.0
Bile Salts No. 3	9.0
Sodium desoxycholate	2.4
Sodium chloride	5.0
Sodium thiosulphate	5.0
Ammonium ferric citrate	1.5
Acid fuchsin	0.1
Bromothymol blue	0.064
Bacteriological Agar	14.0

Εμφάνιση: Πράσινο ανοιχτό διαυγές.

Τελικό pH 7.5 ± 0.2 °C στους 25 °C.

Το XLD AGAR Δεν έχει πολλές θρεπτικές ουσίες και στηρίζεται στο Sodium desoxycholate για την εκλεκτικότητα (αναστολή gram + κόκκων). Η ξυλόζη ζυμώνεται αργά από την *Shigella* και την *Providencia* και έτσι εμφανίζεται αλκαλική αντίδραση (κόκκινες αποικίες). Η Σαλμονέλλα ζυμώνει την ξυλόζη γρήγορα αλλά και την λυσίνη δίνοντας αλκαλική αντίδραση. Τα μεγάλα επίπεδα λακτόζης και σουκρόζης αποτρέπουν τους λυσίνη θετικούς οργανισμούς από την αλκαλική αντίδραση. Η παραγωγή υδρόθειου από τη Σαλμονέλλα και την Αριζόνα υποδηλώνεται με την εμφάνιση κόκκινων αποικιών με μαύρο κέντρο. Το Sodium thiosulfate προστίθεται σαν πηγή θείου και το ferric ammonium citrate σαν

δείκτης δείκτης για την παραγωγή H<sub>2</sub>S. Το ερυθρό της φαινόλης χρησιμοποιείται σαν δείκτης οξέος – βάσης με την ζύμωση της λακτόζης και της σουκρόζης δίνοντας κίτρινες αποικίες.

Το εκχύλισμα ζύμης είναι μια πηγή βιταμινών, ιδιαίτερα του συμπλέγματος -B απαραίτητη για την βακτηριακή ανάπτυξη. Το χλωριούχο νάτριο παρέχει απαραίτητους ηλεκτρολύτες και διατηρεί την ωσμωτική ισορροπία. Το Βακτηριολογικό Agar είναι ο στερεοποιητικός παράγοντας.

ΣΥΝΘΕΣΗ XLD AGAR	g/litre
Xylose	3.75
L-Lysine	5.0
Lactose	7.5
Sucrose	7.5
Sodium chloride	5.0
Yeast Extract	3.0
Phenol red	0.08
Bacteriological Agar	13.5
Sodium desoxycholate	1.0
Sodium thiosulphate	6.8
Ferric ammonium citrate	0.8

Εμφάνιση: Ροζ - κόκκινο διαυγές.

Τελικό pH 7.4 ± 0.2. στους 25 °C.

## ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το S.S. AGAR – HEKTOEN ENTERIC AGAR - XLD AGAR

είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου.

Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).

Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες.

Εάν το τρυβλίο είναι ραγισμένο ή το σακουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε.

Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης.

Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό χωρίς ρωγμές, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης.

Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση.

Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλύνουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι.

Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

## ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους 2 – 8 °C μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους.

Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των 2 °C δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση.

Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για 5 – 7 μέρες αφού το σφραγίσετε με παραφίλμ η με σακουλάκι.

Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους 6 - 25 °C για 4 ημέρες ή στους 25 - 40 °C για 48 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

## ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Τοποθετήστε τα τρυβλία στον επωαστικό κλίβανο (35 - 37 °C) για 30 – 45'.

Εμβολιάστε το δείγμα το συντομότερο δυνατό μετά τη λήψη του και επιστρώστε με διαδοχικές αραιώσεις για μεμονωμένες αποικίες.

Επιάστε σε αερόβιες συνθήκες, στους 35 - 37 °C για 24 ώρες. Συμβουλευτείτε τον πίνακα για το χρώμα των αποικιών.

## ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

### S.S. AGAR:

Τα *Εντεροβακτηριακά* διαφοροποιούνται από την ικανότητα τους να ζυμώνουν την λακτόζη. Τα είδη της *Σαλμονέλλας* και της *Σιγγέλας* που δεν ζυμώνουν την λακτόζη και παράγουν άχρωμες αποικίες. Τα είδη της *Σαλμονέλλας* που παράγουν H<sub>2</sub>S εμφανίζουν αποικίες με μαύρο κέντρο. Η *E. coli* παράγει ροζ έως κόκκινες αποικίες. Ο *Πρωτέας* μπορεί να αναπτυχθεί στο S.S.Agar δίνοντας αποικίες με γκρι έως μαύρο κέντρο λόγω της παραγωγής υδρόθειου. Ο *Enterococcus faecalis* αναστέλλεται μερικώς ενώ οι αποικίες του είναι άχρωμες.

### HEKTOEN ENTERIC AGAR:

Στο HEKTOEN ENTERIC AGAR η *Salmonella spp* παράγει αποικίες μπλε - πράσινες με μαύρο κέντρο λόγω της παραγωγής H<sub>2</sub>S. Η *Shigella flexneri* παράγει μπλε αποικίες.

Η *E. coli* παράγει μεγάλες αποικίες κίτρινες – πορτοκαλί.

### XLD AGAR:

Η *Salmonella spp.* εμφανίζει αποικίες κόκκινες με ή χωρίς μαύρο κέντρο. Οι θετικοί στη λυσίνη οργανισμοί εμφανίζονται κόκκινοι. Η *Shigella spp.* εμφανίζει επίσης κόκκινες αποικίες. Άλλα βακτηρίδια αρνητικά στη λυσίνη τα οποία ζυμώνουν τη λακτόζη, όπως *E. Coli*, *Citrobacter* και *Proteus spp.* εμφανίζονται κίτρινες.

## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η τελική ταυτοποίηση πρέπει να γίνεται με βιοχημικούς και ορολογικούς ελέγχους (π.χ., δοκιμή συγκόλλησης Microgen Salmonella Latex κωδικός: F42) και μπορεί να εκτελούνται απευθείας από τις ύποπτες μοβ αποικίες Σαλμονέλα.

Ο Πρωτέας είναι ένα βακτηρίδιο που μπορεί να δώσει μαύρες αποικίες όπως της Σαλμονέλλας αυτό συμβαίνει γιατί έχει την ιδιότητα να παράγει H<sub>2</sub>S από τη διάσπαση του ferric ammonium citrate.

## ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

### S.S. AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Μορφή και χρώμα αποικιών
<i>Escherichia coli</i>	25922	Μερική αναστολή Κόκκινες αποικίες.
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Μερική αναστολή
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	Άχρωμες με μαύρο κέντρο.
<i>Shigella flexneri</i>	12022	Άχρωμες αποικίες.



S.S. AGAR: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

### HEKTOEN ENTERIC AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη	Μορφή και χρώμα αποικιών
<i>Escherichia coli</i>	25922	Καλή	Μεγάλες, χρώμα κίτρινο - σομόν
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Αναστέλλεται	
<i>Enterobacter cloacae</i>	23355	Καλή	Μεγάλες, χρώμα κίτρινο - σομόν
<i>Proteus vulgaris</i>	13315	Αναστέλλεται	Πρασινωπές
<i>Shigella flexneri</i>	12022	Καλή	Πράσινες
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	Καλή	Μπλε - πράσινες με μαύρο κέντρο.



HEKTOEN ENTERIC AGAR: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

### XLD AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη	Αποικίες
<i>Escherichia coli</i>	25922	Μερική αναστολή	Κίτρινες αποικίες
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Αναστέλλεται	
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	Καλή	Κόκκινες αποικίες με μαύρο κέντρο
<i>Shigella flexneri</i>	12022	Καλή	Κόκκινες αποικίες



XLD AGAR: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

## ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα.

Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικούς μολυσματικά απόβλητα.

Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

#### ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

S.S. AGAR – HEKTOEN ENTERIC AGAR - XLD AGAR 

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο τριχοτομημένο 9cm	030157	10 τεμάχια	2 – 8 °C	3 μήνες

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepare σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714010401WF. EDMA (14 01 04 01) Non-Chromogenic media (Plates).

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ8δ/1348/2004

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

S.S. AGAR

Isenberg, H.D., Kominos, S., and Siegel, M. (1969). Isolation of salmonellae and shigellae from an artificial mixture of fecal bacteria. Appl. Microbiol., 18: 4, 656-659.

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: 581-589.

Taylor, W.I., Harris, B. (1965) Isolation of shigellae. II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Pathol. 44: 4, 476-479.

HEKTOEN ENTERIC AGAR

King, S. and Metzger, W.I. (1967). A new medium for the isolation of *Salmonella* and *Shigella* species. Bact. Proc. Am. Soc. Microbiol. 77.

King, S. and Metzger, W.I. (1968). A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. Hektoen Enteric Agar, Appl. Microbiol., 16(4), 577.

King, S. and Metzger, W.I. (1968). A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. II. Comparison of Hektoen Agar with SS and EMB agar. Appl. Microbiol., 16(4), 579.

Speck, M.L. (ed.). (1976). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. Washington, D.C.: American Public Health Association.

International Standard UNE-EN-ISO 6579. Food Microbiology for human consumption and Animal Feed. Horizontal Method for the detection of *Salmonella* spp.

ISO 19250 water quality-detection of *Salmonella* spp.

XLD AGAR

Taylor, W.I. (1965). Isolation of shigellae. I. Xylose Lysine Agars: New media for the isolation of enteric pathogens. Am. J. Clin. Pathol., 44: 471-475.

Taylor, W.I., and Harris, B. (1965). Isolation of shigellae. II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Pathol., 44(4), 476-479.

Taylor, W.I., and Harris, B. (1967). Isolation of shigellae. III. Comparison of new and traditional media with stool specimens. Am. J. Clin. Pathol., 48: 350 - 355.

Taylor, W.I., and Schelhart, D. (1967). Isolation of shigellae. IV. Comparison of plating media with stools. Am. J. Clin. Pathol., 48: 356-362.

#### ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO



Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: [bioprep1@otenet.gr](mailto:bioprep1@otenet.gr) [www.bioprepare.gr](http://www.bioprepare.gr)