

PODŁOŻE J (AGAR Z DEZOKSYCHOLANEM I CYTRYNIANEM)

Przeznaczenie: używany do izolacji i różnicowania Gram - ujemnych pałeczek jelitowych. Podłoże efektywnie izoluje patogeny jelitowe spośród bakterii grupy coli i *Proteus* spp. Podłoże używane jest do wykrywania *Salmonella* spp. i *Shigella* spp. w produktach żywnościowych. Produkt do użytku profesjonalnego.

1. Opis metody: wyciąg z wieprzowiny oraz wyciąg mięsny są źródłem azotu i witamin. Laktoza jest substratem procesu fermentacji. Dezoksycholan sodu i cytrynian sodu hamują wzrost bakterii Gram – dodatnich, bakterii grupy coli oraz *Proteus* spp. Cytrynian żelaza służy do wykrywania produkcji H₂S przez bakterie. Czerwień obojętna jest wskaźnikiem pH. Agar stanowi podstawę podłoża.

W obecności czerwieni obojętnej, bakterie fermentujące laktozę, na skutek zakwaszenia środowiska tworzą czerwone kolonie. Bakterie nie fermentujące laktozy tworzą bezbarwne kolonie. Jeśli bakterie produkują H₂S, kolonie posiadają czarne centra. Większość bakterii saprofitycznych fermentuje laktozę i nie wytwarza H₂S (czerwone kolonie bez czarnych środków). *Salmonella* spp. jak i *Shigella* spp. nie fermentują laktozy, jednak *Salmonella* może produkować H₂S (bezbarwne kolonie z czarnym środkiem lub bez czarnego środka). Kolonie powodujące fermentację laktozy mogą posiadać strefy strontu, na skutek strącania się dezoksycholanu w obecności kwasu.

2. Skład w g/ l wody destylowanej:

| | |
|-------------------------|--------|
| Wyciąg wołowy..... | 10,0 g |
| Pepton mięsny | 10,0 g |
| Laktoza..... | 10,0 g |
| Cytrynian sodu..... | 20,0 g |
| Cytrynian żelaza..... | 1,0 g |
| Dezoksycholan sodu..... | 5,0 g |
| Czerwień obojętna | 0,02 g |
| Agar | 13,5 g |

3. pH: 7.3 ± 0.2 po ogrzaniu.

4. Przygotowanie podłoża:

1. Dodać 73 g suchego podłoża do 1 litra jałowej wody destylowanej.
2. Podgrzewać, często mieszając. Gotować przez minutę w celu całkowitego rozpuszczenia.
3. UNIKAĆ PRZEGRZANIA.

5. Materiał do badań: wysiew wszelkich materiałów biologicznych, w których badana jest obecność bakterii grupy coli, *Proteus* spp., *Salmonella* spp, *Shigella* spp.

6. Sposób wykonania: po inkubacji badanego materiału w podłożu D, przenieść objętość odpowiadającą 10 g lub 10 ml próby do 100 ml podłoża I i inkubować w 42 – 43°C przez 18 – 24 godz. Po inkubacji przesiał próbkę na dwa podłoża selektywne: J, K bądź L. Prowadzić inkubację przez 24 – 48 h w temp. 35 – 37°C. Przesiał kolonie na podłoże M, inkubować 48 h w temp. 35 – 37°C. Po okresie inkubacji na podłożu M, w obecności *Salmonella* spp. obserwować charakterystyczne zmiany podłoża. Wynik należy potwierdzić badaniami biochemicznymi i serologicznymi.

7. Odczyt i interpretacja wyników: bakterie nie fermentujące laktozy tworzą przezroczyste, bezbarwne kolonie do jasnoróżowych lub opalizujących. Centrum tych kolonii może być czarne. Bakterie fermentujące laktozę tworzą czerwone kolonie z żółtym strontem lub bez strontu.

8. Kontrola jakości: postać odwodniona: suchy, jednorodny proszek, jasnoróżowy.

Przygotowane podłoże: przezroczyste do lekko mętnego, jasnoróżowe do różowoczerwonego.

| Mikroorganizm | Wzrost | Wygląd kolonii |
|--|--------|------------------------------|
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 | (-) | --- |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | (+/-) | kolonie różowe/żółte stronty |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14082 | (+) | bezbarwne kolonie |
| <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022 | (+) | bezbarwne kolonie |

9. Ograniczenia. W celu postawienia ostatecznej diagnozy należy przeprowadzić dodatkowe testy identyfikacyjne.

10. Przechowywanie: podłoże suche przechowywać w 2 – 30°C. Otwarte opakowanie przechowywać szczelnie zamknięte w suchym miejscu w tej samej temperaturze. Przestrzegać terminu ważności zawartego na opakowaniu. Termin ten dotyczy opakowania oryginalnie zamkniętego.

Gotowe podłoże na płytkach przechowywać w temperaturze 6 – 12°C. Podłoże w butelkach przechowywać w temperaturze 6 – 25°C.

11. Postępowanie ze zużytymi podłożami: hodowle należy zniszczyć przez sterylizację w autoklawie lub postępować zgodnie z obowiązującymi procedurami w zależności od typu laboratorium.

12. Środki ostrożności: UWAGA, substancja drażniąca. Chronić oczy, skórę, nie wdychać.

Ze względu na zawartość półproduktów pochodzenia zwierzęcego należy stosować się do zasad postępowania jak z materiałem potencjalnie zakaźnym. Należy postępować zachowując zasady aseptyki.

- 13. Postacie handlowe:** nr kat. 8012 podłoże na płytkach;
nr kat. 8012 butelki z podłożem (100; 200; 500 ml);
nr kat. 210 puder (500 g).
- 14. Termin ważności:** płytki – 90 dni
butelki – 360 dni od daty produkcji;
puder – 3 lata od daty produkcji.
- 15. Piśmiennictwo:**
1. Farmakopea Polska VII.
- 16. Data ostatniej aktualizacji:** 3.02.2015 r.