

## A. HEDEF MİKROORGANİZMALAR

Microgen™ Strep-ID klinik, veteriner, gıda ve çevre alanlarında önemli *Streptococcus* ve *Enterococcus* türlerinin identifikasyonuna yönelik geliştirilmiş 12 substrat içeren bir strip ve ilave olarak hippurat testinden oluşan bir minyatürize identifikasyon sistemidir.

## B. PROSEDÜR

**⚠ Uygun olmayan inkübasyon şartları, kuyucukların yetersiz doldurulması veya inokulum yoğunluğunun yetersiz olması yanlış sonuçlara neden olabilir.**

**Potansiyel patojen mikroorganizmalar** ile yapılan çalışmalarda gerekli **biyogüvenlik önlemleri** alınmalıdır.

Test stripleri, Suspending Broth ve hippurat solüsyonu **2-8°C**'da muhafaza edilmelidir. Ambalajı açılmış stripler **2-8°C**'da **14 güne kadar** muhafaza edilebilir.

### B1. İnokulumun hazırlanması

- Selektif olmayan (Kanlı agar önerilmektedir)** katı besiyeri üzerindeki taze (18-24 saat) ve saf kültürler kullanılmalıdır.
- İnokulumun hazırlanmasından **önce Gram boyama** ve **katalaz testi** gerçekleştirilmelidir. **Gram pozitif** ve **katalaz negatif** izolatlar identifikasyona alınmalıdır.
- Kanlı agar üzerinde gözlemlenen **hemoliz ( $\alpha$  veya  $\beta$ ) tipi** kaydedilmelidir.
- Besiyerinden öze ile koloniler alınır ve oda sıcaklığındaki **Suspending Broth** içinde karıştırılarak emülsifiye edilir. Bu amaçla vorteks kullanılabilir. Süspansiyonun yoğunluğu **2 McFarland standardına** ayarlanmalıdır.
- İnokulum saflığını kontrol amacıyla test striplerinin inokülasyonu öncesinde 1 damla inokulum selektif olmayan bir katı besiyerine inoküle edilir ve test ile eş zamanlı olarak 35-37°C'da 18-24 saat inkübe edilir.

### B2. Hippurat testi

**Boş bir tüpe 3 damla hippurat solüsyonu** eklenir. Birkaç koloni bu solüsyonun içinde öze ile emülsifiye edilir. Kapağı kapatılan tüp **18-24 saat 35-37°C**'da inkübe edilir.

### B3. Test striplerinin inokülasyonu

- Strip(ler) üzerindeki yapışkan band kaldırılır. Bu band tekrar kullanacağı için **atılmamalıdır**.
- Her bir kuyucuğa **steril pastör pipeti ile 3-4 damla (100 µL) inokulum** ilave edilir. Bu işlem inokulumun hazırlanması sonrasında 10 dakika içinde yapılmalıdır.
- İnokülasyon sonrasında **12 numaralı** kuyucuğa **3-4 damla mineral yağ** ilave edilmelidir. Test stripleri üzerinde mineral yağ ilave edilmesi gereken kuyucuk **siyah halkasal çerçeve** ile belirtilmiştir.

	<b>Şipariş kodu</b>	<b>MID 62 (20 test)</b>		
	T: 0216 449 58 70	F: 0216 449 58 72	www.kemitekskimya.com.tr	info@kemitekskimya.com.tr

<b>MICROGEN</b> BIOPRODUCTS	<b>Microgen™ Strep-ID System</b>
<b>KMTKS-MGEN-ID-06</b>	<b>15.09.2019 ver.01</b>
	<b>Sayfa 2/6</b>

### B3. Test striplerinin inkübasyonu

1. İnokülasyon sonrasında yapışkan band stripler üzerine tekrar yapıştırılır.
2. Stripler **35-37°C**'da **18-24 saat** inkübe edilmelidir.

### B4. Sonuçların değerlendirilmesi

1. **18-24 saat inkübasyon** sonrasında stripler üzerindeki yapışkan band kaldırılır ve **8 ve 11 numaralı** kuyucuklar dışında gözlenen renkler **renk kartı (Ek 2)** ile değerlendirilir.
2. **Yeşil halkasal çerçeve** ile belirtilmiş kuyucuklardaki sonuçlar **ancak ayıraç ilavesi** sonrasında değerlendirilebilir;
  - a) **8 numaralı** kuyucuğa bir damla **VP I** ve bir damla **VP II** ayıraçları damlatılır. **15-30 dakika sonra** gözlenen **koyu pembe/kırmızı** renk **pozitif** sonuç olarak kabul edilir.
  - b) **11 numaralı** kuyucuğa bir damla **PYR** ayıracağı damlatılır. **5-10 dakika** içinde gözlenen **pembe-kırmızı** renk **pozitif** sonuç olarak kabul edilir.
3. **Hippurat** solüsyonuna inkübasyon sonrasında **3 damla ninhidrin** ayıracağı damlatılır. **Tüp karıştırılmaz ve ayıracağın solüsyonun üzerinde bir tabaka halinde kalması sağlanır. 10-15 dakika** içinde **üst tabakada** gözlenen **mor** renk **pozitif** sonuç olarak kabul edilir.

### B5. İdentifikasyon

1. Rapor formu (Şekil 1) 3 test sonucu için pozitif sonuçlara karşılık gelen rakamların (1,2 veya 4) toplamı ile bir rakam elde edilecek şekilde düzenlenmiştir. Böylece **5 haneli bir oktal kod** elde edilir.
2. Kodun ilk rakamı hippurat test sonucu (**HIP**) ve gözlenen hemoliz tipi (Alfa hemoliz (**AHE**), Beta hemoliz (**BHE**)) ile oluşturulmaktadır.
3. Elde edilen oktal kod **Microgen Identification System (MID-60)** yazılımına girildiğinde **veri tabanında** test sonuçlarına göre **en yüksek olasılıkta** mikroorganizmalar listelenecektir.

	<b>Şipariş kodu</b>	<b>MID 62 (20 test)</b>		
	T: 0216 449 58 70	F: 0216 449 58 72	www.kemitekskimya.com.tr	info@kemitekskimya.com.tr

## Şekil 1. Rapor formu

MICROGEN STREP-ID  
REPORT FORM

Lab. No. B7365 Specimen Type: Brain Abscess Date: 2/7/07

MICROGEN  
BIOPRODUCTS

Well Number	Strep-ID														
	HIP	AHE	BHE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Reaction				MEL	SOR	INU	LAC	ARA	RIB	ESC	VP	PHS	βGA	PYR	ARG
24 hours	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions	2			0			4			0			4		
Profile No: <u>20404</u>	Final Identification: <u>S. mitis biovar 1</u>														

	<b>Şipariş kodu</b>	<b>MID 62 (20 test)</b>		
	T: 0216 449 58 70	F: 0216 449 58 72	www.kemitekskimya.com.tr	info@kemitekskimya.com.tr





















<b>MICROGEN</b> BIOPRODUCTS	<b>Microgen™ Strep-ID System</b>	
<b>KMTKS-MGEN-ID-06</b>	<b>15.09.2019 ver.01</b>	<b>Sayfa 4/6</b>

### EK 1 Substrat Referans Tablosu

Kuyucuk	Reaksiyon	Tanım	Pozitif	Negatif
1	Melibioz	Karbohidrat fermentasyonu	Sarı	Kırmızı
2	Sorbitol			
3	İnülin			
4	Laktoz			
5	Arabitol			
6	Riboz			
7	Eskülin	İndol	Kırmızı/pembe	Renksiz
8	VP	Glukozdan aseton oluşturma	Koyu pembe/kırmızı	Renksiz/soluk pembe
9	Alkalın Fosfataz	p-nitrofenil fosfatın hidrolizi	Sarı	Renksiz
10	ONPG	ONPG' nin B-galactosidaz ile hidrolizi	Sarı	Renksiz
11	PYR	L-pirolidonil- $\alpha$ -naftilamidin pirolidonil arilamidaz tarafından	Kırmızı/pembe	Renksiz
12	Arjinin Dihidrolaz	Arjinin ornitin, amonyak ve CO <sub>2</sub> 'e dönüşümü	Yeşil/mavi	Sarı/yeşil

	<b>Şipariş kodu</b>	<b>MID 62 (20 test)</b>		
	T: 0216 449 58 70	F: 0216 449 58 72	www.kemitekskimya.com.tr	info@kemitekskimya.com.tr

## EK 2 Renk Kartı

Kuyucuk	1-6	7	8	9-10	11	12	Hippurat
Reaksiyon	Karbohidrat fermentasyonu	Eskülin	VP	PHS βGA	PYR	Arjinin	
Negatif		 					
Pozitif	 		 	 	 	 	

	Şipariş kodu	MID 62 (20 test)		
	T: 0216 449 58 70	F: 0216 449 58 72	www.kemitekskimya.com.tr	info@kemitekskimya.com.tr

## Ek 3 Akış Şeması



Hedef koloninin seçimi ve öze ile alınması



İnokulumun hazırlanması (2 McFarland)



Kuyucuklara inokulumun ilavesi



Anaerobik testler için mineral yağ ilavesi



İnkübasyon sonrası ayrıraçların ilavesi

MICROGEN STREP-ID  
REPORT FORM

Lab. No: B7365 Specimen Type: Brain Abscess Date: 27/10/19

Well Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
Reaction	HIP	AHE	BHE	MEL	SOR	INU	LAG	ARA	RIB	ESC	VP	PHS	BGA	PYR	ARG
24 hours	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions	2		0		4		0		4		4		2		1
Profile No:	20404					Final Identification: <i>S. mitis biovar 1</i>									

Sonuçların değerlendirilmesi

Microgen ID  
File Edit System Help

Specimen Details  
Date: 03/07/2007  
Lab Path: \_\_\_\_\_  
Name: \_\_\_\_\_  
Specimen Type: \_\_\_\_\_  
Source (identification): \_\_\_\_\_

Results Entry  
Test System: Strep Ver1  
Biotin Code: 0004

Identification Analysis  
Select ID Choice: S. mitis biovar 1, S. pneumoniae, S. subsoniae, S. pasteurianus, S. vestibularis  
Probability: 1/5, 1/6, 1/23, 1/136, 1/148  
Percent Probability: 20.00%, 16.67%, 4.35%, 0.74%, 0.68%  
Likelihood: 100%, 66.67%, 16.67%, 7.77%, 1.37%  
Human Isolate: Yes, Yes, No, Yes, Yes

Tests Applied  
Test 1: HIP (B21), ARB (B24), APG (B25)  
Test 2: ESC (B22)  
Test 3: VP (B23)

Additional Tests  
Water: 0.1%  
Esulin + Bile: 32%  
Acid from Trehalose: 30%

Additional Comments  
3. Perform Optochin and Bile Solubility to exclude *S. pneumoniae* (Pos/Neg)  
4. Perform Optochin and Bile Solubility to exclude *S. mitis* or *S. constans* (Neg/Neg)  
5. *S. salivarius*, *S. vestibularis* belong to the *Salivarius* group

Buttons: Append, Results, Print..., Close

Microgen Identification System (MID-60) ile identifikasyon

	<b>Şipariş kodu</b>	<b>MID 62 (20 test)</b>	
	T: 0216 449 58 70	F: 0216 449 58 72	www.kemitekskimya.com.tr info@kemitekskimya.com.tr