**7. هکتون انتریک آگار (HE)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل ساخت و کنترل کیفی محیط کشت هکتون انتریک آگار (HE)** | |
| **کد سند:** | D-003-0009 | |
| **دسته بندی سند:** | دستورالعمل و کنترل کیفی مواد و تست های تشخیصی | |
| **شماره ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ بازنگری سند:** | {{ReviewDate}} | |
| **تهیه کننده:** | **تایید کننده:** | **امضاء :** |
| شرکت دارا ویرا آزما  دکتر داریوش شکری | {{ConfirmerOneName}} | {{ConfirmerTwoName}} |

**(1) هدف:**

هکتون انتریک آگار یک محیط انتخابی و افتراقی است که برای جداسازی و افتراق گونه‌های سالمونلا و شیگلا از سایر باکتری‌های انتروباکترال طراحی شده است. هدف از این دستورالعمل تشریح روش ساخت و کنترل کیفی این محیط می باشد.

## **(2)** **ترکیب محیط (بر حسب گرم در لیتر):**

پروتئاز پپتون (12)، عصاره مخمر (3)، لاکتوز (12)، ساکارز (2)، سالیسین (9)، مخلوط نمک‌های صفراوی (9)، کلرید سدیم (5)، تیوسولفات سدیم (5)، سیترات آمونیوم فریک (5/1)، اسید فوشین (1/0)، بروموتیمول بلو (065/0) و آگار (14). **pH نهایی (در دمای 25 درجه سانتی‌گراد): 2/0±5/7.**

**(3) اساس محیط**:

* هکتون انتریک آگار محیطی است که دارای نمک‌های صفراوی برای مهار انتخابی و دو سیستم شناساگر می باشد:

1. بروموتیمول بلو و اسید فوشین به عنوان شناساگر‌های کاتابولیسم کربوهیدرات.
2. آهن فریک به عنوان شناساگر تشکیل سولفید هیدروژن از تیوسولفات.

* این محیط بسیاری از انتروباکترال ها و سایر باکتری‌های غیر تخمیرکننده لاکتوز را مهار و در نتیجه شناسایی سالمونلا و شیگلا را از نمونه تسهیل می‌کند.
* در این محیط، باکتری‌های سالمونلا کلنی‌های سبز یا آبی-سبز شفاف با یا بدون مراکز سیاه تولید می‌کنند و تقریباً به صورت کلنی‌های کاملاً سیاه ظاهر می‌شوند. شیگلا کلنی‌های سبز و شفاف تولید می‌کند.
* باکتری‌های گرم منفی تخمیر کننده لاکتوز، ساکارز یا سالیسین، کلونی‌هایی به رنگ ماهی سالمون (رنگ صورتی روشن) تولید می‌کنند.

**(4) مراحل ساخت محیط:**

* میزان اشاره شده بر روی قوطی محیط کشت (معمولاً 66 گرم از محیط) را در 1000 میلی‌لیتر آب تصفیه شده یا آب مقطر بریزید.
* آن را حرارت داده تا به جوش آید و محیط کاملاً حل شود. **توجه**: محیط را اتوکلاو نکنید.
* آن را تا دمای 45 تا 50 درجه سانتی‌گراد خنک کنید.
* محیط را خوب مخلوط کرده و در پلیت‌های پتری استریل بریزید.

**(5)کنترل کیفی محیط:**

**ظاهر محیط:** پودر کرم تا زرد همگن بدون چسبندگی پودر.

**حالت محیط بعد از ژله شدن**: سفت، قابل مقایسه با ژل آگار 5/1 درصد.

**رنگ و شفافیت محیط آماده شده:** ژله ای سبز رنگ، شفاف تا کمی کدر.

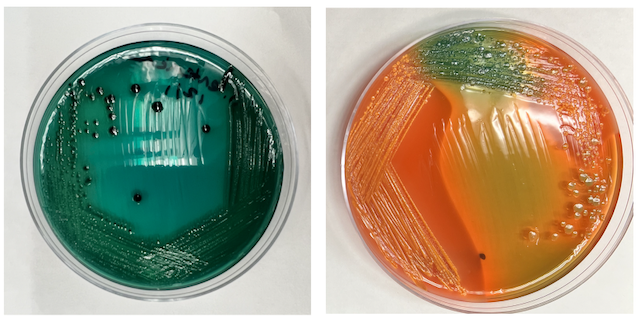
**الگوی رشد ارگانیسم های کنترل کیفی (رقت باکتری:**µL 10 از غلظت 1/0 نیم مک فارلند، **انکوباسیون**:شرایط هوازی به مدت 48-24 ساعت در 35 درجه سانتیگراد**):**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **شکل** | **نتایج** | **ارگانیسم کنترل کیفی** |
| **شکل A** | **رشد ضعیف؛ کلنی‌های نارنجی (گاهی با رسوب املاح صفراوی)** | **اشریشیاکلی ATCC25922** |
| **شکل B** | **رشد خوب؛ آبی مایل به سبز، ممکن است دارای مراکز سیاه باشد (تولید H2S)** | **سالمونلا انتریکا ATCC14028** |
|  | **رشد خوب؛ آبی مایل به سبز** | شیگلا فلکسنری **ATCC12022** |
|  | **منع کامل رشد یا تقریباً کامل** | **انتروکوک فکالیس ATCC29212** |

## 

## **(6) محدودیت‌ها و تداخلات:**

* استفاده از تنها یک محیط کشت به ندرت قادر به بازیابی همه پاتوژن‌های موجود در یک نمونه است. بنابراین محیط‌های بیشتری برای جداسازی سالمونلا و یا شیگلا و احتمالاً سایر پاتوژن‌های روده‌ای باید با نمونه تلقیح شود.
* از آنجایی که سایر ارگانیسم‌ها ممکن است بر روی این محیط کلونی‌های مشابه سالمونلا و شیگلا تشکیل ‌دهند، آزمایش‌های تأییدی بیوشیمیایی و سرولوژیکی ضروری است.
* کلنی‌های پروتئوس میرابیلیس در این محیط ممکن است شبیه کلنی‌های سالمونلا باشند.
* برخی از سویه‌های شیگلا ممکن است به انکوباسیون 42 تا 48 ساعته نیاز داشته باشند.
* اگرچه آزمایش‌های تشخیصی خاصی ممکن است مستقیماً بر روی این محیط انجام شود، آزمایشات بیوشیمیایی و در صورت لزوم ایمونولوژیک با استفاده از کشت‌های خالص برای شناسایی کامل ضروری است.



**A**

**B**

محیط هکتون انتریک. A: اشریشیاکلی (ATCC25922). B: **سالمونلا انتریکا ATCC14028** بعد از 24 ساعت.

**(7) منابع:**

1. کتاب آزمایشگاه باکتری شناسی پزشکی. جلد اول: تشخیص. دکتر داریوش شکری و همکاران. انتشارات تیمورزاده نوین و کیا. 1402.

2. محیط هاي کشت آزمایشگاهی (موارد مصرف وکنترل کیفی) به انضمام اطلس رنگی محیط هاي کشت؛ گردآوري و ترجمه مهناز صارمی و محمد علی صارمی؛ آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی؛ 1387.

3. Quality Assurance for commercially prepared Microbiological Culture Media- Second Edition; CLSI, 2022.