**16.بایل اسکولین**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل روش انجام و کنترل کیفی آزمایش صفرا (بایل) اسکولین** | |
| **کد سند:** | D-003-0030 | |
| **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:**

این آزمایش برای شناسایی احتمالی انتروکوک ها و ارگانیسم های استرپتوکوک گروه Dو تمایز آنها از استرپتوکوک های غیر گروه D استفاده می شود.

**(2) ترکیب محیط کشت:**

عصاره گوشت گاو (11 گرم)، هضم آنزیمی ژلاتین (5/34 گرم)، اسکولین (1 گرم)، صفرا گاو (2 گرم)، سیترات آمونیوم آهن (5/0 گرم)، آگار (15 گرم) در 1000 میلی لیتر آب مقطر،pH برابر 7.

**(3) تهیه محیط کشت:**

1. میزان مشخص شده بر روی ظرف از پودر محیط کشت را با آب مقطر به حجم رسانده و سپس آن را جوشانده تا کاملاً حل شود (می توان از هات پلیت نیز استفاده نمود).

2. اگر محیط به صورت لوله ای تهیه می شود به میزان کافی محیط را در لوله های استریل توزیع نمایید.

3. سپس در فشار 15 lbs در دمای 121 درجه سانتی گراد به مدت 15 دقیقه اتوکلاو به انجام می رسد.

4. اگر محیط به صورت پلیتی تهیه می شود بعد از اتوکلاو و خنک شدن محیط تا 45 الی 50 درجه سانتی گراد محیط را به میزان کافی در پلیت های استریل توزیع کنید.

5. اگر محیط به صورت اسلنت (مایل) تهیه می شود باید قبل از بسته شدن بر روی سطح شیب دار با شیبی گذاشته شود که حداقل عمق 3 سانتی متری را ایجاد کند.

**(4) ﺍﺳﺎﺱ ﺁﺯﻣﺎﻳﺶ:**

ﺍﺳﺘﺮپتوﻛﻮﻙ ﻫﺎﻱ گروﻩD و ﺍﻧﺘﺮﻭﻛـﻮﻙ ﻫـﺎ گلیکوزید ﺍﺳـﻜﻮﻟﻴﻦ موجود در این محیط ﺭﺍ ﺑـﻪ ﺍﺳـﻜﻮﻟﺘﻴﻦ ﻭ ﺩﻛﺴـﺘﺮﻭﺯ ﺗﺠﺰﻳـﻪ ﻣﻲ ﻛﻨﻨﺪ. ﺳﻴﺘﺮﺍﺕ ﻓﺮﻳﻚ ﺑﻪ ﻋﻨﻮﺍﻥ ﻣﻌﺮﻑ (ﺍﻧﺪﻳﻜﺎﺗﻮﺭ) ﺗﺠﺰﻳﻪ ﺍﺳﻜﻮﻟﻴﻦ ﻭ ﺗﺸﻜﻴﻞ ﺍﺳﻜﻮﻟﺘﻴﻦ، ﺑﻪ ﺩﺍﺧﻞ ﻣﺤﻴﻂ ﺍﻓﺰﻭﺩﻩ ﻣﻲ ﺷﻮﺩ و ﺍﺳﻜﻮﻟﺘﻴﻦ تشکیل شده ﺑﺎ ﻧﻤﻚ ﺁﻫﻦFe3+  ﺑﻪ ﺷﻜﻞ ﻛﻤپلکس ﻗﻬﻮﻩ ﺍﻱ ﺗﻴﺮﻩ ﻳـﺎ ﺳـﻴﺎﻩ ﻭﺍﻛـﻨﺶ ﻣـﻲ ﺩﻫـﺪ. باکتری های گرم مثبت غیر از برخی استرپتوکوک ها و انتروکوک ها توسط نمک های صفراوی (یا اگزال) موجود در این محیط مهار می شوند.

**(5) مواد و وسایل مورد نیاز:**

کشت تازه 24 ساعته، ﻣﺤﻴﻂ ﻛﺸﺖ ﺑﺎﻳﻞ ﺍﺳﻜﻮﻟﻴﻦ ﺁگاﺭ ﺗﻬﻴﻪ ﺷﺪﻩ ﺩﺭ پلیت ﻳﺎ ﺩﺭ ﻟﻮﻟﻪ ﺑﺼﻮﺭﺕ ﺷﻴﺐﺩﺍﺭ، آنس یا لوپ**.**

**(6) ﺭﻭﺵ ﺍﻧﺠﺎﻡ ﻛﺎﺭ:**

ﻣﺤﻴﻂ ﻛﺸﺖ ﺭﺍ ﺑﺎ ﺩﻭ ﻳﺎ ﺳﻪ ﻛﻠﻨﻲ از یک کشت 18 تا 24 ساعته ﺗﻠﻘﻴﺢﻛﻨﻴﺪ (اگر ﻣﺤﻴﻂ ﻛﺸﺖ ﺩﺭ ﻟﻮﻟﻪ ﺗﻬﻴﻪ ﺷﺪﻩ، ﺑﺎﻳﺪ ﺳـﻄﺢ ﻭ ﻋﻤـﻖ ﺭﺍ ﺗﻠﻘـﻴﺢ ﻧﻤﺎﻳﻴﺪ) ﻭ ﺑﻪ ﻣﺪﺕ ٢٤-١٨ ﺳﺎﻋﺖ ﺩﺭ ﺩﻣﺎﻱC°٢±٣٥، ﺩﺭ ﺷﺮﺍﻳﻂ ﻫﻮﺍﺯﻱ ﻳﺎ ﺍﺗﻤﺴﻔﺮ ﻣﺤﺘﻮﻱ ﺩﻱ ﺍﻛﺴﻴﺪ ﻛـﺮﺑﻦ، ﺍﻧﻜﻮﺑﻪ ﻧﻤﺎﻳﻴﺪ. ﺑﻌﻀﻲ ﺍﺯ ﺳﻮﻳﻪ ﻫﺎ ﺑﻪ ﺍﻧﻜﻮﺑﺎﺳﻴﻮﻥ ﺑﻴﺸﺘﺮﻱ، ﻧﻬﺎﻳﺘاً ٤٨ ﺳﺎﻋﺖ، ﻧﻴﺎﺯ ﺩﺍﺭﻧﺪ. ﺳﻴﺎﻩ ﺷﺪﻥ ﻣﺤﻴﻂ ﺩﻻﻟـﺖ ﺑﺮ ﻣﺜﺒﺖ ﺑﻮﺩﻥ ﻧﺘﻴﺠﻪ ﺁﺯﻣﺎﻳﺶ ﺩﺍﺭﺩ. ﻧﺘﻴﺠﻪ ﻣﺜﺒﺖ ﺍﻏﻠﺐ ﺩﺭ ﻃﻲ ٤ ﺳﺎﻋﺖ ﻇﺎﻫﺮ ﻣﻲ ﺷﻮﺩ، ﺍﻣﺎ ﺩﺭ ﻧﻬﺎﻳﺖ ﻫﻤﻪ ﺍﺳﺘﺮپتوﻛﻮﻙ ﻫـﺎﻱ گـﺮﻭﻩ D ﺩﺭ ﻃـﻲ ٤٨ ﺳﺎﻋﺖ، ﻣﺜﺒﺖ ﺧﻮﺍﻫﻨﺪ ﺷﺪ.

**(7) محدودیت ها و ﺗﺪﺍﺧﻼﺕ:**

* ﻣﺤﻴﻂ ﺑﺎﻳﻞ ﺍﺳﻜﻮﻟﻴﻦ ﺁگاﺭ، باید ﺣﺎﻭﻱ٤٠% ﺑﺎﻳﻞ ﺑﺎﺷﺪ اما ﻣﺤﻴﻂ ﻛﺸـﺖ ﺳـﺎﺧﺖ ﺑﻌﻀـﻲ ﺍﺯ ﺳـﺎﺯﻧﺪگاﻥ، ﺣﺎﻭﻱ ﻣﻘﺪﺍﺭ ﻛﻤﺘﺮﻱ ﺻﻔﺮﺍ ﻣﻲ ﺑﺎﺷﺪ، ﺩﺭ ﻧﺘﻴﺠﻪ منجر ﺑﻪ تشخیص ﺍﺷﺘﺒﺎﻩ ﺑﻌﻀﻲ ﺍﺯ ﺍﺳﺘﺮپتوﻛﻮﻙ ﻫﺎﻱ ﻭﻳﺮﻳﺪاﻧﺲ به ﻋﻨﻮﺍﻥ ﺍﺳﺘﺮپتوﻛﻮﻙ گرﻭﻩ D ﻳﺎ ﺍﻧﺘﺮﻭﻛﻮﻙ ﻣﻲ ﺷﻮﺩ.
* ﺣﺪﻭﺩ٣٠%ﺍﺯ ﺍﺳﺘﺮپتوﻛﻮﻙ ﻫﺎﻱ ﻭﻳﺮﻳﺪاﻧﺲ ﺑﺎﻳﻞ ﺍﺳﻜﻮﻟﻴﻦ ﻣﺜﺒﺖ ﻫﺴﺘﻨﺪ و برای تفکیک آنها باید از تست های اضافی استفاده نمود.
* به دلیل نیازهای تغذیه ای، برخی از ارگانیسم ها ممکن است در این محیط رشد ضعیفی داشته باشند یا اصلاً رشد نکنند.

**(8) ﻛﻨﺘﺮﻝ ﻛﻴﻔﻲ:**

**ظاهر محیط:** یکنواخت و زرد کمرنگ تا زرد متمایل به قهوه ای بدون چسبندگی پودر.

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

**رنگ و شفافیت محیط آماده شده:** ژل ای کهربایی رنگ، شفاف تا کمی کدر.

**الگوی رشد ارگانیسم های کنترل کیفی:**

**مثبت:** استرپتوکوک فکالیس **(**ATCC29212**):** ﺭﺷﺪ ﻣﻲ ﻛﻨﺪ ﻭ ﺍﻃﺮﺍﻑ ﻛﻠﻮﻧﻲ ﻫـﺎ ﺳـﻴﺎﻩ ﻣـﻲ ﺷـﻮﺩ (شکل A)**.**

**منفی**: استرپتوکوک پایوژنز **(**ATCC19615**)**: ﺭﺷﺪ ﺑﻄﻮﺭ ﺟﺰﺋﻲ ﺗﺎ ﻛﺎﻣﻞ ﻣﻬﺎﺭ ﻣﻲ ﺷﻮﺩ (شکل B)**.**

**پروتئوس میرابیلیس** ATCC25933: رشد بدون واکنش.

****

آزمایش بایل اسکولین. A: مثبت. B: منفی.

**(9) 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. Koneman، Elmer W، et al. Color Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology. *Philedelphia: Lippincott-Raven Publishers. Seventh edition.* 2021.

4. Microbiological culture media; second Edition; 2009; Becton, Dickinson and Company.Approved standard- Third edition document M22-A3. Vol. 24, No. 19; 2006.

5. Tille, Patricia. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology-e-book*. Elsevier Health Sciences, fifteenth edition. 2021.