

KALİTE KONTROLÜ PROSEDÜRLERİ**I GİRİŞ**

Cooked Meat Medium (Pişmiş Et Besiyeri), anaerobların kültürasyonunda kullanılan bir besiyeridir.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

- Aşağıda listelenen kültürler ile temsili örnekleri inoküle edin.
 - 0,01 mL'ye kalibre edilmiş öze ile, 18 ila 72 saatlik Cooked Meat Medium kültürlerini (veya daha önceden indirgenmiş Fluid Thioglycollate Medium tüplerine aktarılmış ve 1,0 McFarland standardına ayarlanmış 48 saatlik CDC Anaerob %5 Koyun Kanı Agar plak kültürlerinden alınan koloniler) kullanarak *Clostridium* türlerini ve Vitamin K₁ ve Hemin ile zenginleştirilmiş 18 ila 48 saatlik Thioglycollate Medium kullanarak *Bacteroides* türlerini inoküle edin.
 - Tüpleri 35 ± 2 °C'de anaerobik atmosferde inkübe edin (**GasPak EZ** Anaerobic System veya eşdeğeri).
- 7 güne kadar tüpleri gelişim, etin sindirilmesi, kararma ve gaz üretimi açısından inceleyin. Besiyeri asidik kalırsa kararma gecikebilir veya gerçekleşmeyebilir. Et partiküllerinin kararması yalnızca alkali varlığında gerçekleşir; reaksiyon, demir ve alkali çevre üzerindeki etkinin bir bileşimidir.¹
- Beklenen Sonuçlar

Organizmalar	ATCC	Geri Kazanım
* <i>Clostridium perfringens</i>	13124	Yoğun gaz üretimiyle gelişim
* <i>Clostridium sporogenes</i>	11437	Gaz üretimi ve sindirimle gelişim, kararma gösterebilir
<i>Clostridium septicum</i>	6008	Gaz üretimiyle gelişim, kararma gösterebilir
<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	Gaz üretimiyle veya gaz üretimi olmadan gelişim, kararma gösterebilir
<i>Bacteroides vulgatus</i>	8482	Gaz üretimiyle veya olmadan gelişim, kararma gösterebilir

*Kullanıcı Tarafından Kalite Kontrolü için tavsiye edilen organizma.

III EK KALİTE KONTROLÜ

- Tüpleri "Ürünün Bozulması" altında tanımlandığı şekilde inceleyin.
- Mevcut olan herhangi bir fiziksel bozukluğun kullanımı etkilemeyeceğinden emin olmak için temsili tüpleri görsel olarak inceleyin.
- İnoküle edilmemiş temsili tüpleri 20 – 25 °C ve 30 – 35 °C'de inkübe edin ve 7 gün sonra mikrobiyal kontaminasyon açısından inceleyin.

ÜRÜN BİLGİLERİ**IV KULLANIM AMACI**

Cooked Meat Medium, özellikle patojenik clostridia olmak üzere anaerobların kültürasyonunda kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

1916'da Robertson, yaralardan izole edilen belirli anaerobların kültürasyonunda kullanmak üzere bir pişmiş et besiyeri geliştirmiştir.¹ Mevcut Cooked Meat Medium formülasyonu, Robertson'un orijinal formülünün bir modifikasyonudur.

Cooked Meat Medium, clostridia'nın kültürasyonu ve idamesi için ve anaerobların proteolitik aktivitesini belirlemek için kullanılır. Birçok spor oluşturan ve spor oluşturmayan zorunlu anaerobun gelişimini destekler ve stok kültürlerin idamesini de kapsayan çeşitli amaçlar için kullanılabilir. Bu besiyeri aynı zamanda plaklı besiyerine² yedek zenginleştirici broth olarak veya bir popülasyonda az sayıda bulunabilen anaerobların kültürasyonu için ve proteolizin (et sindirimi) ve *Clostridium* türleri tarafından spor oluşumunun belirlenmesi için bir alt kültür besiyeri olarak da faydalıdır.

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Kalp dokusu granüllerindeki kas proteini, amino asit ve diğer besinlerin kaynağı olduğundan Cooked Meat Medium, anaerobların gelişimi için uygun bir çevre sağlar. Kas dokusu aynı zamanda başta glutatyon olmak üzere indirgeyici maddeler sağlar. İndirgeyici etki gösteren sülfhidril grupları, denatüre proteinde daha çok bulunur; bu sebeple et partikülleri, besiyerinde kullanım için pişirilir.

BBL formülünde, sığır kalbi içeriği, kuru kalp dokusu granüllerinin ağırlığı olarak ifade edilir.

Gelişim, türbidite tarafından ve bazı organizmalarda, besiyerinde gaz kabarcıklarının bulunması ile gösterilir. Et partiküllerinin sindirilmesi ve kararması proteolizi gösterir. Sporların şekli ve konumunu belirlemek için Gram boyama veya spor boyama işlemi yapılmalıdır.

VII REAKTİFLER

Cooked Meat Medium

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

Kalp Dokusu Granülleri	98,0 g
Hayvan Dokularının Peptik Dijesti	20,0 g
Dekstroz	2,0 g
Sodyum Klorür	5,0 g

*Performans kriterlerini karşılamak üzere gereken şekilde ayarlanmış ve/veya desteklenmiştir.

Uyarılar ve Önlemler: *In vitro* Diyagnostik Kullanım içindir.

Sıkılmış kapaklı tüpler, camın kırılmasına bağlı yaralanmaları önlemek için dikkatli bir şekilde açılmalıdır.

Tüm prosedürler boyunca mikrobiyolojik tehlikelere karşı uygun aseptik teknikleri ve belirlenen önlemleri uygulayın. Kullanımdan sonra, hazırlanan tüpler, örnek kapları ve diğer kontamine malzemeler atılmadan önce otoklavlanarak sterilize edilmelidir.

Saklama Talimatları: Alındıktan sonra, tüpleri karanlıkta 2 ila 25 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve fazla ısıtmaktan kaçının. Kullanıma hazır olana kadar açmayın. Kullanım öncesine kadar etikette belirtildiği şekilde saklanan tüp besiyeri son kullanma tarihine kadar inoküle edilebilir ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir. Işığa maruz kalmamasını sağlayın.

Ürünün Bozulması: Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma veya diğer bozulma belirtileri görmeniz halinde tüpleri kullanmayın.

VIII ÖRNEK TOPLAMA VE İŞLEME

Kültür için uygun örnekler çeşitli teknikler kullanılarak işlenebilir. Ayrıntılı bilgi için ilgili metinlere bakın.^{2,3}

Örnekler, antimikrobiyal ajanlar verilmeden önce alınmalıdır. Örneklerin laboratuvara hızlı bir şekilde ulaştırılması için gerekli düzenlemeler yapılmalıdır.

IX PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler: Cooked Meat Medium

Gerekli fakat sağlanmamış malzemeler: Yardımcı kültür besiyeri, reaktifler, kalite kontrol organizmaları ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

Kapakları gevşetilmiş tüpler kullanılmadan önce, anaerobik inkübasyon için sıvı besiyeri, inokülasyondan önce anaerobik koşullarda 18 ila 24 s bekletilerek indirgenmelidir. Uygun anaerobik koşulları elde etmenin etkili ve kolay bir yolu, **GasPak** EZ anaerobik sisteminin kullanılmasıdır. Alternatif olarak, kullanmadan hemen önce sıvı besiyeri, kapakları gevşek bir halde 10 dakika kaynatılıp, inokülasyondan önce oda sıcaklığına soğutularak indirgenebilir. Yetiştirilecek organizmalar ilk olarak uygun besiyerinde, saf kültürde izole edilmelidir.

Steril bir inokülasyon özesi veya iğnesi kullanarak, gelişimi, et partiküllerinin bulunduğu alana yoğun şekilde inoküle ederek taze alt kültür besiyerinden aktarın. Tüpleri 35 ± 2 °C'de anaerobik koşullar altında 7 güne kadar inkübe edin. Bir anaerobiyoz indikatörünün kullanılması önerilir.

Kullanıcı tarafından Kalite Kontrolü: "Kalite Kontrolü Prosedürleri"ne bakın.

Kalite Kontrolü gereksinimleri, ilgili yerel, resmi ve/veya federal düzenlemelere veya akreditasyon gereksinimlerine ya da laboratuvarınızın standart Kalite Kontrolü prosedürlerine uygun olarak gerçekleştirilmelidir. Kullanıcının, uygun Kalite Kontrolü uygulamaları için ilgili CLSI (eski adı NCCLS) yönergelerine ve CLIA düzenlemelerine uyması önerilir.

X SONUÇLAR

Clostridia'nın kültürasyonunda, sakkarolitik organizmalar genellikle asit ve gaz üretirler. Proteolitik organizmaların gelişimi genellikle et partiküllerinin kararması ve çözünmesi ile karakterize edilir.

XI PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

Teşhis için, organizmalar saf kültürde bulunmalıdır. Nihai teşhis için morfolojik, biyokimyasal ve/veya serolojik testler gerçekleştirilmelidir. Detaylı bilgiler ve tavsiye edilen prosedürler için ilgili metinlere bakın.²⁻⁴

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Piyasaya sürülmeden önce tüm Cooked Meat Medium lotları performans özellikleri açısından test edilmiştir. 0,01 mL kalibre edilmiş öze kullanılarak, temsili lot örnekleri, *Clostridium perfringens* (ATCC 13124), *C. septicum* (ATCC 6008), *C. sporogenes* (ATCC 11437), *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) ve *B. vulgatus* (ATCC 8482) kültürleri ile inoküle edilir. *Clostridia* için inokulumlar, Cooked Meat Medium'dan veya CDC Anaerob %5 Koyun Kanı Agar plaklarında gelişen ve ardından Fluid Thioglycollate Medium'da 1,0 McFarland Standard'a seyreltilen kolonilerden alınır. *Bacteroides* için inokulumlar, Vitamin K₁ ve Hemin ile Zenginleştirilmiş Thioglycollate Medium'dan alınır. Inoküle edilmiş tüpler, **GasPak** Plus veya **GasPak** EZ anaerobik sisteminden 35 ± 2 °C'de inkübe edilir ve 1, 3 ve 7 günlük inkübasyondan sonra okunur. 7 gün içerisinde bütün organizmalar için gelişim,

orta ila yoğundur. *C. perfringens*, *C. septicum* ve *C. sporogenes* ile gaz üretimi gerçekleşir. *C. sporogenes* ile sindirim belirgindir ve *C. septicum* ile belirgin olabilir veya olmayabilir. Clostridia ile kararma görülebilir veya görülmeyebilir. *B. fragilis* ve *B. vulgatus* gaz üretebilir veya üretmeyebilir ve az miktarda kararma gösterebilir.

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No.	Açıklama
221507	BD BBL Cooked Meat Medium, 8 mL, 10'lu boyut K tüp paketi
221508	BD BBL Cooked Meat Medium, 8 mL, 100'lü boyut K tüp kutusu

XIV REFERANSLAR

1. Robertson, M. 1916. Notes upon certain anaerobes isolated from wounds. J. Pathol. Bacteriol. 20:327-349.
2. Forbes, B.A., and P.A. Granato. 1995. Processing specimens for bacteria, p. 265-281. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

BD Diagnostics Teknik Desteği: yerel BD temsilcinizle temasa geçin veya www.bd.com/ds adresine başvurun.

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

 Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD