

KALİTE KONTROLÜ PROSEDÜRLERİ (İsteğe Bağlı)**I GİRİŞ**

Selenite-F Broth, *Salmonella* ve bazı *Shigella* türlerinin izolasyonu için bir zenginleştirme besiyeridir.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

- Aşağıda listelenen kültürlerle temsili örnekleri inoküle edin.
 - Steril tek kullanımlık 1,0 mL pipetler kullanarak tüpleri, $10^2 - 10^3$ CFU/mL içerecek şekilde seyreltilmiş 18 ila 24 saatlik 1,0 mL **Trypticase** Soy Broth *Salmonella* Typhimurium ve *Shigella sonnei* kültürleri ile inoküle edin.
 - Yukarıda anlatıldığı şekilde inoküle edilen tüplerin her birine $10^2 - 10^3$ CFU/mL içerecek şekilde seyreltilmiş 18 ila 24 saatlik 1,0 mL TSB *Escherichia coli* kültürü ekleyin. Aşılammamış bir Selenite-F Broth tüpü, gelişim kontrolü olarak alt kültür işlemine ve inkübasyona dahil edilir.
 - Bütün tüpleri iyice vorteksleyin.
- Bütün tüpleri, kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de aerobik atmosferde 18 ila 24 s inkübe edin. İnkübasyondan sonra, tüpleri vorteksleyin ve her tüpten dolu bir öze ile MacConkey II Agar plaklarına sürme yöntemini kullanarak ekim yapın.
- MacConkey II Agar plaklarını 35 ± 2 °C'de 18 ila 24 s aerobik atmosferde inkübe edin. MacConkey II Agar plaklarını, laktöz pozitif (pembe koloniler) ve laktöz negatif (renksiz koloniler) organizmaların gelişim miktarı açısından inceleyin.

4. Beklenen Sonuçlar

CLSI Organizmaları	ATCC	MacConkey II Agar'da Geri Kazanım
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotip Typhimurium	14028	Renksiz kolonilerin orta ila yoğun gelişimi
* <i>Shigella sonnei</i>	9290	Renksiz kolonilerin orta ila yoğun gelişimi
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Kısmi ila tam inhibisyon (pembe koloniler)

NOT: Gelişim kontrolü, MacConkey II Agar üzerinde gelişme göstermez.

*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.
- $7,0 \pm 0,2$ spesifikasyonuna uyması için pH değerini oda sıcaklığında potansiyometrik olarak belirleyin.
- İnoküle edilmemiş temsili tüpleri 20 ila 25 °C ve 30 ila 35 °C'de inkübe edin ve 7 gün sonra mikrobiyal kontaminasyon açısından inceleyin.

ÜRÜN BİLGİLERİ**IV KULLANIM AMACI**

Selenite-F Broth, dışkı, idrar, su, gıda ve sıhhi önemi olan diğer maddelerden *Salmonella* izolasyonu için bir zenginleştirme besiyeri olarak kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

Selenite-F Broth, selenitin koliformlar ve fekal örneklerde bulunan fekal streptokoklar gibi diğer belirli mikrop türleri için inhibitör olduğunu gösteren Leifson¹ tarafından tasarlanmıştır ve bu sebeple *Salmonella* türlerinin geri kazanımında faydalıdır. İnhibe edilen suşların sonunda kırılacağını, fakat eğer alt kültürler zenginleştirme broth'undan yapılmışsa 8 ila 12 saatlik inkübasyondan sonra, *Salmonella* izolasyonunun bağırsak florasının birçok üyesinin gelişimini baskılamadan mümkün olduğunu bulmuştur.

Patojenler genellikle bağırsak florasının yalnızca küçük bir yüzdesini temsil ettiğinden, zenginleştirici besiyeri, fekal örneklerde patojenlerin saptanması için rutin olarak kullanılır. Selenite-F Broth ve ilgili besiyeri, Selenite Cystine Broth, 12 ila 18 saatlik inkübasyon sonrasında yapılan alt kültürler ile *Salmonella* geri kazanımında kullanım için önerilir. *Shigella* saptanması için, GN Broth yeterli bir zenginleştirici besiyeridir.² *Campylobacter* Thioglycollate Medium with 5 Antimicrobics (5 Antimikrobik içeren *Kampilobakter* Tiyoglikolay Besiyeri), laboratuvara geç ulaştırma sebebiyle veya hastalığın akut aşamasının geçmesi sebebiyle düşük sayıda organizma beklenen, *Campylobacter jejuni* içerdiğinden şüphelenilen örnekler için tavsiye edilmektedir.³

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Kazein peptonu, temel azot ve karbon bileşiklerini sağlar. Besiyerindeki laktoz tekdüze bir pH değerini sürdürmeye hizmet eder. Bakterilerin gelişimiyle selenit indirgendiğinde, baz üretilir ve pH değerindeki böyle bir artış, selenitin toksisitesini azaltır ve ilgisiz bakterilerin aşırı gelişmesi ile sonuçlanır. Laktoz fermentasyonu ile üretilen asit, nötral veya hafif azalmış bir pH değerini korumaya hizmet eder. Fosfatın işlevi iki katıdır; stabil bir pH değerini korumaya hizmet eder ve aynı zamanda selenitin toksisitesini azaltarak besiyerinin kapasitesini artırır. Sodyum selenit, enterokok ve koliformlar da dahil olmak üzere birçok gram pozitif ve gram negatif bakteri türünü inhibe eder.

VII REAKTİFLER

Selenite-F Broth

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

Kazeinin Pankreatik Dijesti	5,0 g
Laktoz	4,0 g
Sodyum Selenit	4,0 g
Sodyum Fosfat	10,0 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.

Klinik örneklerde hepatit virüsü ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü de dahil olmak üzere patojenik mikroorganizmalar bulunabilir. Kan veya diğer vücut sıvılarıyla kontamine olan tüm öğelerle çalışılırken, "Standard Precautions" (Standart Önlemler)⁴⁻⁷ ve kurumsal düzenlemeler takip edilmelidir. Kullanımdan sonra, hazırlanan tüpler, örnek kapları ve diğer kontamine olmuş malzemeler atılmadan önce otoklavlanarak sterilize edilmelidir.

Saklama Talimatları: Alındıktan sonra, tüpleri karanlıkta 2 ila 8°C'de saklayın. Dondurmaktan ve fazla ısıtmaktan kaçının. Kullanıma hazır olana kadar açmayın. Işığa maruz kalmamasını sağlayın. Kullanım öncesine kadar etikette belirtildiği şekilde saklanan tüp besiyeri, son kullanma tarihine kadar inoküle edilebilir ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir. Besiyerinin inokülasyon öncesinde oda sıcaklığına gelmesini bekleyin.

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.^{8,9}

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

IX PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler: Selenite-F Broth

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

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

Dışkı ve diğer katı maddeler için, 1 – 2 g örneği broth içerisinde süspanse edin (hacimce yaklaşık %10 – 15) ve gerekli ise bir inokülasyon iğnesi ile emülsifiye edin.

Tüpleri, kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de 24 saate kadar inkübe edin. Mümkünse, alt kültürler inkübasyondan 12 ila 18 s sonra yapılmalıdır. 24 saatten daha uzun süre inkübe edilirse, koliformlar aşırı gelişme eğiliminde olacaktırlar.

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

Her bir ortam lotu uygun kalite kontrol organizmaları kullanılarak test edilmiştir; bu test, ürünün teknik özelliklerini ve ilgili olduğu yerlerde CLSI standartlarını karşılamaktadır. Her zamanki gibi gerekli kalite kontrolleri ilgili yerel, resmi, federal düzenlemelere veya ülke düzenlemelerine, akreditasyon gerekliliklerine ve/veya laboratuvarınızın standart kalite kontrol prosedürlerine uygun olarak gerçekleştirilmelidir.

Tüpe koyulmuş besiyerinin pH değerini potansiyometrik olarak belirlemek için tüplere oturacak şekilde yeterince küçük boyutta tek bir elektrot kullanılmalıdır. Elektrotun ucu, broth besiyerinin yüzeyinin altına yerleştirilmelidir.

X SONUÇLAR

Inkübasyondan sonra, seçmek ve zenginleştirmek için besiyeri tasarlanan patojenlerin sayısında bir artış olmalıdır. Teşhis için patojenleri izole etmek üzere uygun seçici ve diferansiyel besiyerinde (örn., MacConkey Agar, Hektoen Enteric Agar, XLD Agar, XLT4 Agar ve CHROMagar Salmonella) alt kültür oluşturun.

XI PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

Zenginleştirici broth'lar tek başına izolasyon besiyeri olarak kullanılmamalıdır. Özellikle az sayıda bulunduklarında, patojenlerin izolasyon olasılığını arttırmak için seçici ve seçici olmayan plak besiyeri ile birlikte kullanım içindir. Teşhis için, organizma saf kültürde bulunmalıdır. Nihai teşhis için morfolojik, biyokimyasal ve/veya serolojik testler gerçekleştirilmelidir. Detaylı bilgiler ve tavsiye edilen prosedürler için ilgili metinlere bakın.⁸⁻¹⁰

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Kelly ve ekibi tarafından yürütülen bir çalışmada¹¹ 8.717 dışkı örneği kültür oluşturmak için laboratuvara gönderilmiştir. Örnekler doğrudan XLD Agar ve Selenite enrichment broth'a inoküle edilmiştir. 12 ila 18 s sonra Selenite broth'tan XLD Agar'a alt kültürler hazırlanmıştır. *Salmonella enterica*, 312 (%3,6) dışkı örneğinde tanımlanmıştır; 197'si (%63) daha önceden teşhis edilen vakalar ve 115'i (%37) yeni tanımlanan vakalardandır. 115 yeni *S. enterica* izolatından 68'i, hem birincil XLD plate hem de Selenite broth'tan geri kazanılmıştır. Bununla birlikte, 47'si (%41) yalnızca Selenite zenginleştiricisinden sonra gelişmiştir.

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No.	Açıklama
221020	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, 10'lu boyut K tüp paketi
221021	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, 100'lü boyut K tüp kutusu

XIV REFERANSLAR

1. Leifson, E. 1936. New selenite selective enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid *Salmonella* bacilli. Am. J. Hyg. 24:423-432.
2. Taylor, W.I., and B. Harris. 1965. Isolation of Shigellae, II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Pathol. 44:476-479.
3. Nachamkin, I. 1999. *Campylobacter* and *Arcobacter*, p. 716-726. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
5. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
6. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
8. 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.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. 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.
11. Kelly, S., M. Cormican, L. Parke, G. Corbett-Feeney, and J. Flynn. 1999. Cost-effective methods for isolation of *Salmonella enterica* in the clinical laboratory. J. Clin. Microbiol. 37: 3369.

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