

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

TSI Agar (Triple Sugar Iron Agar), dekstroz, laktoz ve sü krozu fermente etme ve sü lfit üretme yetenekleri temelinde gram negatif enterik organizmalar için diferansiyel bir besiyeridir.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

- Aşağıda listelenen kültürlerle temsili örnekleri inoküle edin.
 - 18 ila 24 saatlik **Trypticase** Soy Agar slant kültürleri kullanarak, tüpleri bir inokülasyon iğnesi ile uç kısmı delip slant yüzeyi boyunca ileri geri sürerek inoküle edin.
 - Tüpleri kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de aerobik atmosferde inkübe edin.

- 18 ila 24 s sonra tüpleri gelişim ve reaksiyonlar açısından inceleyin.

- Beklenen Sonuçlar

Organizmalar	ATCC	Slant	Uç	Gaz	H ₂ S
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Asit	Asit	+	–
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotip Typhimurium	14028	Bazik	Asit	+/-	+
* <i>Shigella flexneri</i>	12022	Bazik	Asit	–	–
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Bazik	Bazik	–	–

*Kullanıcı tarafından Kalite Kontrolü için tavsiye edilen organizma.

NOT: Bu besiyeri, CLSI M22-A3'e göre Kullanıcı KK testinden muaftır.

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.
- $7,3 \pm 0,2$ spesifikasyonuna uyması için pH değerini oda sıcaklığında potansiyometrik olarak belirleyin.
- 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**

TSI Agar, karbondhidrat fermentasyonu ve hidrojen sü lfit üretimi temelinde gram negatif enterik basillerin tespitinde kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

TSI Agar, gram negatif basillerin tanınmasında, karbondhidrat fermentasyonu ve hidrojen sü lfit üretiminin belirlenmesi için kullanılır.^{1,2}

Hajna, Kligler Iron Agar'ın çift şekerli (dekstroz ve laktoz) formülasyonuna sü kroz ekleyerek TSI Agar formülasyonunu geliştirmiştir.³ Sü kroz eklenmesi, sü krozu fermente eden basillerin yanı sıra laktoz ve/veya dekstrozu fermente edenlerin saptanmasını kolaylaştırarak duyarlılığı artırmıştır.

Karbondhidrat fermentasyonu pH göstergesi, fenol kırmızısının gözle görünür renk değişimi (kırmızıdan sarıya) ve gaz varlığı ile saptanır. Hidrojen sü lfit üretimi, tüpün ucundaki besiyerini karartan çökelti bulunması ile gösterilir.

VI PROSEDÜR İLKELERİ

TSI Agar, üç şeker (dekstroz, laktoz ve sü kroz), karbondhidrat fermentasyonunun saptaması için fenol kırmızısı ve hidrojen sü lfü r üretiminin (tüpün ucunda kararma ile gösterilen) saptanması için ferröz sü lfat içerir.

Karbondhidrat fermentasyonu, gaz üretimi ve pH göstergesi renginde kırmızıdan sarıya renk değişimi ile gösterilir. Yalnızca dekstrozu fermente eden organizmaların saptanmasını kolaylaştırmak için, dekstroz konsantrasyonu laktoz veya sü kroz konsantrasyonunun onda biridir. Dekstroz fermentasyonu sırasında tüp slantında üretilen az miktarda asit, besiyerinin kırmızı kalmasına veya bazik bir pH değerine dönmesine neden olarak hızla oksidize olur. Zıt olarak, asit reaksiyonu (sarı) tüpün ucunda devam eder, bunun nedeni düşük oksijen gerilimi altında olmasıdır.

Sınırlı miktardaki dekstroz tükendikten sonra, yapabilen organizmalar laktoz veya sü krozu kullanacaktır.⁴

Slanttaki bazik koşulu arttırmak için, tüp kapağını gevşek şekilde kapatmak suretiyle havanın serbestçe değişimine izin verilmelidir. Tüp sıkı kapatılmışsa, slantta asidik bir reaksiyon da oluşacaktır (yalnızca dekstroz fermentasyonunun neden olduğu).

VII REAKTİFLER

TSI Agar

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

Kazeinin Pankreatik Dijesti	10,0 g	Dekstroz	1,0 g
Hayvan Dokularının Peptik Dijesti ...	10,0 g	Ferröz Amonyum Sülfat	0,2 g
Sodyum Klorür	5,0 g	Sodyum Tiyosülfat	0,2 g
Laktoz	10,0 g	Fenol Kırmızısı	0,025 g
Sükroz	10,0 g	Agar	13,0 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 belirlenen önlemleri uygulayın. Hazır tüpleri, örnek kaplarını ve kontamine olmuş diğer malzemeleri atmadan önce otoklavlama yoluyla sterilize edin.

Saklama Talimatları: Alındıktan sonra, tüpleri karanlıkta 2 ila 8°C'de saklayın. Dondurmaktan ve fazla ısıtmaktan kaçının. Kullanıma hazır olana kadar açmayın. İşğe 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.^{2,5}

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

IX PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler: TSI Agar Slantları

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

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

Inoküle etmek için, enterik plak besiyerinde izole bir koloninin yalnızca merkezine soğuk steril bir iğne ile dikkatlice dokunun, tüpün ucundaki besiyerine batırın ve ardından slantın yüzeyi boyunca ileri geri sürün. Karışık enfeksiyonlar oluşabileceğinden, her birincil plaktan birkaç koloni ayrı ayrı incelenmelidir.

Kapakları açık bir halde 35 °C'de inkübe edin ve 18 ila 24 s sonra karbonhidrat fermentasyonu, gaz üretimi ve hidrojen sülfür üretimi açısından inceleyin. Bu reaksiyonların herhangi bir kombinasyonu gözlenebilir. 24 saatten fazla inkübe etmeyin, bunun nedeni laktoz ve sükroz fermente edenlerin slantındaki asit reaksiyonu bazik bir reaksiyona dönebilecek olmasıdır.

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.

X SONUÇLAR

Bilinmeyen izolat tarafından oluşturulan reaksiyonları, bilinen kontrol organizmaları ile oluşturulan reaksiyonlarla karşılaştırın.

Karbonhidrat fermentasyonu, besiyerinin sarı renklenmesi ile gösterilir. Tüpün ucundaki besiyeri sarı (asidik), fakat slanttaki besiyeri kırmızı (bazik) olursa, test edilen organizma yalnızca dekstrozu (glikoz) fermente eder.

Slant ve uçtaki sarı (asidik) bir renk, test edilen organizmanın dekstroz, laktoz ve/veya sükrozu fermente ettiğini gösterir.

Slant ve uçtaki kırmızı (bazik) bir renk, test edilecek organizmanın fermente edici olmadığını gösterir.

Hidrojen sülfid üretimi, tüpün ucunda siyah çökeltiye neden olur.

Gaz üretimi, besiyerinin bölünmesi ve yırtılması ile gösterilir.

Daha fazla bilgi için ilgili referanslara bakın.^{2,5-7}

XI PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

Bazı organizmalar, Kligler Iron Agar'da hidrojen sülfid üretimi gösterirken, TSI Agar'da göstermez, bunun nedeni TSI Agar'da sükröz kullanılması ve H₂S üretimine neden olan enzim mekanizmasını baskılamasıdır. Spesifik olarak, H₂S üreten *Salmonella* ve bazı *Enterobacteriaceae* üyeleri, TSI Agar üzerinde H₂S pozitif olmayabilir.¹

Kligler Iron Agar gibi, TSI Agar'da hidrojen sülfid üreten organizmalar öyle çok siyah çökelti, ferröz sülfid üretebilir ki, uçta oluşturulan asitlik tamamen maskelenir. Bununla birlikte, H₂S indirgenirse, gözlenemez olsa bile uçta asidik bir koşul oluşur ve bu şekilde kaydedilmelidir.¹

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.^{2,5-7}

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Piyasaya sürülmeden önce tüm TSI Agar slantları, performans özellikleri açısından test edilir. Temsili lot örnekleri slanta sürme yöntemi ile ekim yapılarak ve uç kısmı bir inokülasyon iğnesi ile delinerek, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028) ve *Shigella flexneri* (ATCC 12022) **Trypticase** Soy Agar kültürleri ile test edilir. Tüpler, kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de inkübe edilir ve 18 ila 24 s sonra gelişim ve reaksiyonlar açısından okunur. Bütün organizmaların gelişimi orta ila yoğundur. *E. coli* ile inoküle edilen tüpün slantı asit reaksiyonu gösterirken, diğer tüm inoküle edilen tüplerin slantları baziktir. *S. flexneri* dipte bir asit reaksiyonu, *P. aeruginosa* bir baz reaksiyonu oluşturur. *E. coli* uçta asit ve gaz üretir. *Salmonella* Typhimurium besiyerini karartmanın yanı sıra uçta asit reaksiyonu oluşturur; gaz bulunabilir veya bulunmayabilir.

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No.	Açıklama
221038	BD BBL TSI Agar Slants, 10'lu boyut K tüp paketi
221039	BD BBL TSI Agar Slants, 100'lü boyut K tüp kutusu

XIV REFERANSLAR

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
3. Hajna, A.A. 1945. Triple-sugar iron agar medium for the identification of the intestinal group of bacteria. J. Bacteriol. 49:516-517.
4. Baron, E.J., L.R. Peterson and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc.
5. 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.
6. Ewing, W.H. 1985. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
7. 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