



**BBL Thioglycollate Medium,
Enriched with Vitamin K₁ and Hemin
L007509 • Rev. 14 • Ekim 2015**



KALİTE KONTROLÜ PROSEDÜRLERİ (İsteğe Bağlı)

I GİRİŞ

Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K₁ and Hemin, güç üreyen ve güç üremeyen mikroorganizmaların yetiştirilmesinde kullanılan genel amaçlı bir besiyeridir.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

1. Kapaklar gevşetilmiş şekilde kaynatarak* besiyerinin tüplerini indirgeyin. Kaynattıktan sonra, derhal kapakları kapatın ve tüplerin oda sıcaklığında soğumasına izin verin.

*NOT: Mikrodalga fırın kullanılması önerilmez.

2. İnokülanın Hazırlanması

48 ila 72 saatlik bir Enriched Thioglycollate Medium, Chopped Meat Medium kültürü veya Enriched Thioglycollate Medium ön indirgenmiş tüpüne aktarılan CDC Anaerobe 5% Sheep Blood Agar plağından kolonileri kullanın ve 0,5 McFarland standardıyla karşılaştırılabilir bir türbiditeye ayarlayın.

3. Steril bir 0,01 mL kalibre edilmiş öze kullanarak, her bir organizma için standart inokulumdan tüpleri inoküle edin.
4. Tüpleri kapakları kapalı bir halde 35 ± 2 °C'de aerobik atmosferde inkübe edin.
5. 18–24 s ve 42–48 s sonra tüpleri gelişme açısından inceleyin.
6. Beklenen Sonuçlar

CLSI Organizmaları	ATCC	Geri Kazanım
* <i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	27337	Gelişim
* <i>Bacteroides vulgatus</i>	8482	Gelişim
* <i>Clostridium perfringens</i>	13124	Gelişim
Ek Organizmalar		
<i>Porphyromonas levii</i>	29147	Gelişim
<i>Clostridium novyi A</i>	7659	Gelişim

*Kullanıcı tarafından Kalite Kontrolü için tavsiye edilen organizma.

III EK KALİTE KONTROLÜ

1. Tüpleri "Ürünün Bozulması" altında tanımlandığı şekilde inceleyin.
2. Mevcut olan herhangi bir fiziksel bozukluğun kullanımı etkilemeyeceğinden emin olmak için temsili tüpleri görsel olarak inceleyin.
3. 7,0 ± 0,2 spesifikasyonuna uyması için pH değerini oda sıcaklığında potansiyometrik olarak belirleyin.
4. 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

Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K₁ and Hemin, çeşitli klinik ve klinik dışı malzemelerden alınan, aerobik ve anaerobik bakteriler dahil, güç üreyen ve güç üremeyen mikroorganizmaların kültürasyonu için niteliksel prosedürlerde kullanılan genel amaçlı bir besiyeridir.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

Enriched Thioglycollate Medium, vitamin K₁ ve hemin ile takviye edilen Indicator-135C olmaksızın **BBL** Thioglycollate Medium'dur.¹⁻³ Zenginleştirilmiş broth besiyeri, klinik malzemelerde mevcut olan güç üreyen veya yavaş gelişen, obligat olarak anaerobik mikroorganizmaların izolasyonunda ve kültürasyonunda kullanım için önerilir.^{4,5} Geniş çapta aerobik ve fakültatif olarak anaerobik mikroorganizmaların izolasyonu ve kültürasyonu için de önerilir. Besiyeri anaerobik kafa alanı ile hazırlanır ve CDC tavsiyelerine uygun olarak vidayla kapatılmış tüplerde sağlanır.⁴ Vitamin K₁ ve heminin gelişim açısından belli anaeroblar için gerekli olduğu gösterilmiştir.^{6,7}

Mikroorganizmaların klinik malzemelerden izolasyonu, normalde primer izolasyon için kullanılan seçici, diferansiyel ve seçici olmayan plaklı besiyerine ek olarak zenginleştirilmiş broth besiyerinin kullanımını sıklıkla gerektirir. Sıvı "destekli" besiyerlerinin kullanımı, düşük sayılarda mevcut olan, plaklı besiyerlerinde yavaş gelişen, seçici ajanlara duyarlı olan veya elverişsiz inkübasyon koşullarına duyarlı olan etiyolojik bir ajanın tamamen eksik olması ihtimalini azaltır, yani, obligat anaerobların optimum gelişimi için yetersiz anaerobiyosis.

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Bir indirgeyici ajan olan sodyum tioglikolat, besiyerindeki düşük oksijen gerilimini korur. Vitamin K₁ bazı *Prevotella melaninogenica*⁶ suşları için bir gelişim gereksinimidir ve bazı *Bacteroides* türlerinin ve gram-pozitif spor oluşturmeyen suşların gelişimini arttırdığı bildirilmektedir.⁸ Hemin pek çok mikroorganizmanın gelişimini stimüle eden X faktörünün kaynağıdır.

VII REAKTİFLER

Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K₁ and Hemin

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

Kazeinin Pankreatik Dijesti	17,0 g	Agar	0,7 g
Soya Fasulyesi Kuspesi Papaik Dijesti	3,0 g	L-Sistin	0,25 g
Dekstroz	6,0 g	Sodyum Sülfid	0,1 g
Sodyum Klorür	2,5 g	Hemin	0,005 g
Sodyum Tiyoglikolat	0,5 g	Vitamin K ₁	0,001 g

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

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

Kültür besiyerinde olası cansız organizma mevcudiyeti nedeniyle, bu besiyeri ile işlenen doku örneklerinde doğrudan Gram boya ve/veya diğer doğrudan mikrobiyolojik boya sonuçlarını bildirirken dikkat gösterilmelidir.

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

Klinik örneklerde hepatit virüsleri ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü de dahil olmak üzere patojenik mikroorganizmalar bulunabilir. Kan veya diğer vücut sıvılarıyla kontamine olan tüm öğelerle çalışılırken, "Standart Önlemler"⁹⁻¹² ve kurumsal düzenlemeler takip edilmelidir. Kullanımdan sonra, hazırlanan tüpler, örnek kapları ve diğer kontamine malzemeler atılmadan önce otoklavlanarak sterilize edilmelidir.

Saklama Talimatları: Alındıktan sonra, tüpleri karanlıkta 2 ila 8 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve aşırı 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.^{13,14} Örnekler, antimikrobiyal ajanlar verilmeden önce alınmalıdır. Örneklerin laboratuvara hızlı bir şekilde ulaştırılması için gerekli düzenlemeler yapılmalıdır.

IX PROSEDÜR

Sağlanan Malzemeler: Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K₁ and Hemin

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, **BD GasPak EZ** anaerobik sisteminin kullanılmasıdır. Alternatif olarak, kullanmadan hemen önce sıvı besiyeri, kapakları gevşek bir halde kaynatılıp*, inokülasyondan önce kapağı kapalı olarak oda sıcaklığına soğutulularak indirgenebilir.

Laboratuvara ulaşır ulaşmaz örneği tercih edilen besiyerine inoküle edin. Sıvı örneklerle, tüplü besiyeri örneğin bir veya iki damlası ile inoküle edilmelidir. Doku örnekleri, mikroorganizmaların kültürasyonu için Enriched Thioglycollate Medium (Zenginleştirilmiş Tiyoglikolat Besiyeri) gibi steril indirgenmiş broth içinde kıyılmalı ve öğütülmelidir. İnokülasyon sıvı örnekler için gerçekleştirilir. Swab örnekleri, plak besiyerinin inokülasyonundan sonra broth'a eklenebilir. Alternatif olarak, swab Enriched Thioglycollate Medium gibi steril, indirgenmiş küçük hacimli bir broth'ta ve sıvı örneklerle gerçekleştirildiği gibi besiyerlerini inoküle etmekte kullanılan broth'ta "ovalanabilir".

Bilinen veya zorunlu anaerob içerdiğinden şüphe edilen örnekler tüpün alt kısmına yakın inoküle edilmelidir. Tüpleri, kapakları sıkı bir halde aerobik olarak 35 ± 2 °C'de veya başka uygun bir sıcaklıkta inkübe edin.

Broth kültürler negatif olarak değerlendirilmeden önce en az 1 hafta bekletilmelidir.¹⁵

***NOT:** Mikrodalga fırın kullanılması önerilmez.

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

Enriched Thioglycollate Medium gibi broth tüplerindeki gelişim, inoküle edilmemiş kontrolle kıyaslandığında türbiditenin görünüşü ile gösterilir.

Gelişim saptanırsa, kültürler Gram boyaması ile incelenmelidir ve seçici veya seçici olmayan plak besiyerlerine alt kültürlenmelidir. Anaeroblardan şüphelenilirse, alt kültürler uygun anaerobik plak besiyerlerine de yapılmalıdır.

XI PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

Anaeroblar daha hızlı gelişen fakültatif organizmalar ile kaplanabilir. İnceleyin ve plak besiyeri gelişim göstermezse broth'a Gram boya uygulayın. Özellikle anaerobların izolasyonu için asla broth kültürüne güvenmeyin. Bazı anaeroblar, daha hızlı gelişen fakültatif anaeroblar tarafından üretilen metabolik ürünler veya asitler tarafından inhibe edilebilir.¹⁵

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.^{13,14,16}

Kültür besiyeri bazen, kültür besiyeri smear'larında görülebilen, besiyeri bileşenlerinden türeyen ölü organizmalar içerebilir. Gram boyama ile görünür hale gelen diğer ölü organizma kaynakları, boya reaktifleri, imersiyon yağı, cam kesitler ve inokülasyon için kullanılan örneklerdir. Eğer Gram boyanın geçerliliği hakkında belirsizlik varsa, kültür bir veya iki saat daha yeniden inkübe edilmeli ve rapor verilmeden önce test tekrar edilmelidir.

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Piyasaya sürülmeden önce tüm Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K₁ and Hemin lotları performans özellikleri açısından test edilmiştir. İnokülasyondan önce, lotun temsili örnekleri su banyosunda minimum 10 dakika kaynatılarak indirgenir ve soğutulur. 0,01 mL kalibre edilmiş öze kullanılarak, tüpler 0,5 McFarland türbidite standardına ayarlanmış olan kültürlerle inoküle edilir. *Porphyromonas levii* (ATCC 29147), *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) ve *Peptostreptococcus anaerobius* (ATCC 27337) için inoküla CDC Anaerobe 5% Sheep Blood Agar plaklarında gelişmiş kolonilerden hazırlanır ve önceden indirgenmiş Thioglycollate Medium, Enriched'te doğru inokulum konsantrasyonuna ayarlanır. *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482) için inokulum Thioglycollate Medium, Enriched'ten alınır ve *C. novyi* A (ATCC 7659) için inokulum Chopped Meat Glucose Broth, PR II'den alınır. Tüpler besiyerinin olabildiğince derinine broth'ların yüzeyinin altına inoküle edilir. İnokülasyondan sonra kapaklar derhal sıkılır ve tüpler aerobik olarak 35 ± 2 °C'de inkübe edilir. 18–24 s ve 42–48 s sonra gelişim miktarı açısından tüpler okunur. 48 s sonra tüm organizmalar eser ile yoğun gelişim gösterir.

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No.	Açıklama
221742	BD BBL Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K ₁ , and Hemin, 5 mL
221787	BD BBL Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K ₁ , and Hemin, 8 mL
221788	BD BBL Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K ₁ , and Hemin, 8 mL
297292	BD BBL Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K ₁ , and Hemin, 10 mL

XIV REFERANSLAR

1. Brewer, J.H. 1940. A clear liquid medium for the "aerobic" cultivation of anaerobes. J. Bacteriol. 39:10.
2. Vera, H.D. 1944. Comparative study of materials suitable for the cultivation of clostridia. J. Bacteriol. 47:59-65.
3. Dowell, V.R., Jr., and T.M. Hawkins. 1987. Laboratory methods in anaerobic bacteriology. CDC laboratory manual. HHS Publication No. (CDC) 87-8272. Centers for Disease Control, Atlanta.
4. Dowell, V.R., Jr., G.L. Lombard, F.S. Thompson, and A.Y. Armfield. 1977. Media for isolation, characterization, and identification of obligately anaerobic bacteria. CDC laboratory manual. Center for Disease Control, Atlanta.
5. 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.
6. Gibbons, R.J. and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. J. Bacteriol. 80:164-170.
7. Wilkins, T.D., S.L. Chalgren, F. Jimenez-Ulate, C.R. Drake, Jr., and J.L. Johnson. 1976. Inhibition of *Bacteroides fragilis* on blood agar plates and reversal of inhibition by added hemin. J. Clin. Microbiol. 3:359-363.
8. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 365-375. In E.H. Lennette, G.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
10. 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.
11. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
12. 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.
13. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller (ed.). 2007. Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 12th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
15. Reischelderfer, C., and J.I. Mangels. 1994. Culture media for anaerobes, p. 2.3.1-2.3.8. In H.D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
16. 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