

**KALİTE KONTROLÜ PROSEDÜRLERİ****I GİRİŞ**

Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid grup B streptococci'nin (*Streptococcus agalactiae*) seçici zenginleştirilmesi için kullanılır.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

- Aşağıda listelenen kültürler ile temsili örnekleri inoküle edin.
 - Steril 1,0 mL pipetler kullanarak, tüpleri 18 ila 24 saatlik **Trypticase** Soy Broth kültürlerinin 1,0 mL seyreltimleri ile inoküle edin. Seyreltim, *S. agalactiae* için 1.000 veya daha az CFU/mL ve *E. coli* için $1,0 \times 10^5$ CFU/mL içermelidir.
 - Tüpleri, kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de aerobik atmosferde inkübe edin.
- 3 güne kadar tüpleri gelişme ve reaksiyonlar açısından inceleyin.
- Beklenen Sonuçlar

Organizmalar	ATCC	Geri Kazanım
* <i>Streptococcus agalactiae</i>	12386	Gelişim
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Gelişim yok

*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.
- $7,8 \pm 0,3$ 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**

Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid, özellikle genital örneklerden, grup B streptococci'nin (*Streptococcus agalactiae*) seçici zenginleştirilmesi için kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

1970'lerdeki doğuşundan itibaren, neonatal grup B streptokokal hastalığı yeni doğanlar arasında hastalık ve ölümün ana bir bulaşıcı bir neden haline gelmiştir. 1994'ten önce, tahmini 7.600 invazif grup B streptokokal hastalık epizodu, primer olarak sepsis ve menenjit, bu epizodların yaklaşık olarak %80'i yaşamın birinci haftası dahilinde meydana gelen erken beliren hastalığı temsil etmek üzere, Amerika Birleşik Devletleri'nde yeni doğanlarda her yıl meydana gelmiştir.¹ Hastalık yenidoğanlara anorektum veya genital yolunda grup B streptokok taşıyan bir anneden dikey iletim yoluyla yayılmaktadır. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) neonatal grup B streptokokal hastalığın önlenmesi için izleme ve intrapartum kemoprofilaksis kullanımı ilkelerini ortaya koymuştur.² Todd Hewitt Broth'un Gentamisin ve Nalidiksik Asitle (veya Lim Broth) kullanımı koyun kanı agarında plaklama ile grup B streptokok geri kazanımı ihtimalini maksimuma çıkarmak için önerilen bir besiyeridir.^{2,3}

Grup B streptokoklar parturien olmayan kadınlarda ve erkeklerde sepsis vakalarında ve eklem enfeksiyonlarında, kemik iliği iltihabında, idrar yolu enfeksiyonlarında ve yara enfeksiyonlarında da bulunmuştur. Hasar görmüş hastalarda endokardit, pnömoni ve deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarıyla ilişkilendirilmektedir.⁴

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Todd Hewitt Broth birincil olarak özellikle serolojik çalışmalarda, b-hemolitik streptococci kültürasyonu için kullanılan genel amaçlı bir besiyeridir.^{5,6} Besiyeri, pepton, dekstroz ve tuz içeriği sayesinde fazlasıyla besleyicidir. Dekstroz hemolisin üretimini stimüle eder. Sodyum fosfat ve sodyum karbonat, dekstrozun fermantasyonu sırasında üretilen asiditeye karşı reaksiyon göstermek için tamponlama eylemi sağlar, böylelikle hemolisini asit tarafından inaktive edilmekten korur.⁷

Grup B streptokoklar için seçicilik besiyerine gentamisin ve nalidiksik asit inklüzyonu ile elde edilir. Seçici zenginleştirme brothları, kontaminantların gelişimini inhibe ederken grup B streptokoklarının gelişimine yardımcı olan koşulları sağlayarak hem zenginleştirme hem de seçim avantajlarını içerir.

VII REAKTİFLER**Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid**

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

(Katılardan) Kalp İnfüzyonu	3,1 g	Sodyum Fosfat	0,4 g
Peptonen.....	20,0 g	Sodyum Karbonat.....	2,5 g
Dekstroz.....	2,0 g	Gentamisin	8,0 mg
Sodyum Klorür	2,0 g	Nalidiksik Asit	15,0 mg

*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 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"⁸⁻¹¹ 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. 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.^{4,12} Örnekler, antimikrobiyal ajanlar verilmeden önce alınmalıdır. Örneklerin laboratuvara hızlı bir şekilde ulaştırılması için gerekli düzenlemeler yapılmalıdır.

IX PROSEDÜR

Sağlanan Malzemeler: Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid

Gerekli Fakat Sağlanmamış Malzemeler: Yardımcı kültür besiyeri, reaktifler, kalite kontrol organizmaları ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

Tüpleri kapakları gevşek bir halde 18–24 s boyunca 35 ± 2 °C'de karbondioksit eklenmiş veya eklenmemiş aerobik atmosferde inoküle ve inkübe edin.

Türbidite gözlemlenirse, broth kültüründen koyun kanı agar plağına alt kültür uygulayın; aksi halde, atmadan önce ilave 24 saat inkübe edin.^{3,4,13}

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

Kalite kontrolü gereksinimleri ilgili yerel, resmi ve/veya federal düzenlemelere veya akreditasyon gerekliliklerine 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.

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

Broth besiyerindeki gelişim, aşılanmamış bir kontrole kıyasla türbidite varlığı ile gösterilir.

Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II) plağına alt kültürleyin ve 18–24 s boyunca veya gerekirse 48 s'ye kadar inkübe edin. Grup B streptokoklarını ortaya koyan organizmaları tanımlayın (β- veya hemolitik olmayan, gram-pozitif ve katalaz negatif). Spesifik tanımlama gerçekleştirilebilir, örn, streptokokal gruplama serası, CAMP testi veya diğer prosedürler kullanılarak.

XI PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

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.^{4,12,14}

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Piyasaya sürülmeden önce tüm Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid lotları, performans özellikleri açısından test edilmiştir. Lotun temsili örnekleri mL başına 1.000 veya daha az koloni oluşturan ünite (CFU) içermesi için seyreltilmiş 1,0 mL *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12386) ile veya 10⁵ CFU/mL içermesi için seyreltilmiş 1 mL *Escherichia coli* (ATCC 25922) ile inoküle edilmiştir. Gevşek kapaklı tüpler, 35 ± 2 °C'de inkübe edilir. *S. agalactiae* 3 gün içinde orta ile yoğun gelişim gösterir, *E. coli* 3 günlük inkübasyonda sonra inhibe edilir.

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No. Açıklama

299486 **BD BBL** Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid, 100'lü boyut K tüp kutusu

XIV REFERANSLAR

1. Federal Register. 1994. Prevention of group B streptococcal disease: a public health perspective. Fed. Regist. 59:64764-64773.
2. Centers for Disease Control and Prevention. 2002. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 51 (No. RR-11):1.
3. Ruoff, K.L., R.A. Wiley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*, p. 405-421. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.

5. Todd, E.W., and L.F. Hewitt. 1932. A new culture medium for the production of antigenic streptococcal haemolysin. J. Pathol. Bacteriol. 35:973-974.
6. Updyke, E.L., and M.I. Nickle. 1954. A dehydrated medium for the preparation of type specific extracts of group A streptococci. Appl. Microbiol. 2:117-118.
7. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Isenberg, H. (ed.). 2004. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1, 2 and 3, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. 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