

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

Fluid Thioglycollate Medium (Sıvı Tiyoglikolat Besiyeri), anaeroblar, mikroaerofiller ve aerobların kültivasyonu için genel amaçlı bir besiyeridir ve biyolojik ürünlerin sterilite testi için bir besiyeri olarak önerilir.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

1. Aşağıda listelenen kültürler ile temsili örnekleri inoküle edin.

- Kullanmadan önce, kapakları gevşetin ve tüpleri besiyeri indirgenene kadar (renksiz) yaklaşık olarak 5 dakika kaynar suda* bekletin. Isıdan uzaklaştırdıktan hemen sonra kapakları sıkıştırın. Besiyerinin oda sıcaklığına soğumasını bekleyin.

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

- Bacteroides* ve *Clostridium* için 24 ila 48 saatlik **Trypticase** Soy Broth kültürleri veya Enriched Thioglycollate Medium (Zenginleştirilmiş Tiyoglikolat Besiyeri) kültürlerinden 100 veya daha az CFU/mL içeren bir seyreltim hazırlayın.
- 1,0 mL steril pipetler kullanarak, tüpleri 0,75 mL seyreltim ile inoküle edin.
- Sıkıca kapatılmış kapaklarla inkübe edilmesi gereken CLSI suşları (*Bacteroides fragilis* ATCC 25285 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) haricinde, kapakları gevşetilmiş tüpleri 30 ila 35 °C'de aerobik atmosferde inkübe edin.

2. CLSI tarafından önerilen kontrol suşu tüplerini (kapakları sıkıca kapatılmış) 18 ila 24. ve 48. saatte gelişim açısından inceleyin. Diğer kontrol suşu tüplerini (*USP* tarafından önerilen) 3 güne kadar gelişim açısından inceleyin.

3. Beklenen Sonuçlar

CLSI Organizmaları	ATCC	Geri Kazanım
* <i>Bacteroides fragilis</i>	25285	Gelişim
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Gelişim
Ek Organizmalar		
(USP Gelişimi Destekleyici Test)		
** <i>Staphylococcus aureus</i>	6538	Gelişim
** <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	Gelişim
** <i>Clostridium sporogenes</i>	11437	Gelişim
** <i>Clostridium sporogenes</i>	19404	Gelişim
** <i>Bacillus subtilis</i>	6633	Gelişim
** <i>Kocuria rhizophila</i>	9341	Gelişim
** <i>Bacteroides vulgatus</i>	8482	Gelişim

*Kullanıcı Tarafından Kalite Kontrolü için tavsiye edilen organizma.

***USP* Sterilite Testlerinde kullanım için gelişim destekleyici özelliklerin doğrulanması için.

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.
- 7,1 ± 0,2 spesifikasyonuna uyması için pH değerini oda sıcaklığında potansiyometrik olarak belirleyin.
- Inoküle 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**

Fluid Thioglycollate Medium (Sıvı Tiyoglikolat Besiyeri), *Birleşik Devletler Farmakopesi (USP)* spesifikasyonlarına uyar.

Fluid Thioglycollate Medium (FTM), biyolojik ürünlerin sterilite testi ve anaerobların, aerobların ve mikroaerofillerin kültivasyonu için kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

Fluid Thioglycollate Medium, anaeroblar ve aerobların hızlı kùltivasyonu için Brewer tarafından tasarlanmıştır.¹ İlk defa 1940'ta Baltimore Biological Laboratory (BBL) tarafından dehidrate formda piyasaya sür÷lmüştür. Kazein pepton bileşimi 1944'te Vera tarafından piyasaya sür÷lmüştür.²

Bu besiyeri, hem patojenik hem de patojenik olmayan çok çeşitli güç üreyen organizmanın iyi gelişmesini destekleyebilme yeteneğindedir. İndirgeme.-yükseltme potansiyelini düşürmeye ek olarak, sodyum tiyoglikolatın bir özelliği, cıvalı bileşiklerin antibakteriyel etkinliğini nötralize etme yeteneğidir. Bu özellikler biyolojik ve diğer maddelerde kontaminasyon varlığını belirlemek için FTM'yi özellikle faydalı kılar. **BBL** formülü, *USP* gelişimi destekleyici test gerekliliklerini karşılar.³

Fluid Thioglycollate Medium hazırlandıktan sonra, yüzeyde pembe renkte resazurin ile gösterildiği gibi, besiyerinin yaklaşık %30'u oksidize olana kadar kullanılabilir. Oksitlenme daha fazla ilerlemişse, broth bir kez buharda veya kaynar suda yeniden ısıtılıp, soğutulup kullanılabilir.

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Dekstroz, pepton, L-sistin ve maya ekstraktı bakteriyel replikasyon için gerekli gelişim faktörlerini sağlar. Sodyum klorür temel iyonları sağlar. Sodyum tiyoglikolat bazı mikroorganizmalar için öldürücü olan peroksit birikimini önleyen indirgeyici bir ajandır. Ağır metal bileşiklerini inaktive eden sülfhidril grupları içermesi ve düşük bir redoks potansiyelini koruyarak anaerobiyozu desteklemesi sebebiyle, L-Sistin de indirgeyici bir ajandır. Resazurin, oksidize olduğunda pembe ve indirgendiğinde renksiz olan bir indirgeme.-yükseltme indikatörüdür. Az miktarda agar besiyerini ısı akımlarına karşı stabilize ederek, böylece besiyerinin daha derinlerinde anaerobiyozu sürdürerek düşük redoks potansiyelinin korunmasına yardımcı olur.⁴ *USP*, Fluid Thioglycollate Medium formülasyonunda 5,5 g/L dekstroz listeler. **BBL** formülü dekstrozun (5,0 g/L) susuz formunu içerir.

VII REAKTİFLER

Fluid Thioglycollate Medium

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

Kazeinin Pankreatik Dijesti.....	15,0 g	Sodyum Klorür.....	2,5 g
L-Sistin	0,5 g	Sodyum Tiyoglikolat	0,5 g
Dekstroz (susuz)	5,0 g	Resazurin	0,001 g
Maya Ekstraktı	5,0 g	Agar	0,75 g

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

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

Kùltür 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 virüsü ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü de dahil olmak üzere patojenik mikroorganizmalar bulunabilir. Kan veya diğer vücut sıvılarıyla kontamine olan tüm öğelerle çalışılırken, "Standart Önlemler"⁵⁻⁸ ve kurumsal düzenlemeler takip edilmelidir. Kullanımdan sonra, hazırlanan tüpler, örnek kapları ve diğer kontamine olmuş malzemeler atılmadan önce otoklavlanarak sterilize edilmelidir.

Saklama Talimatları: Aldıktan sonra tüpleri etiket talimatlarına uygun olarak karanlıkta 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

Kùltür için uygun örnekler çeşitli teknikler kullanılarak işlenebilir. Ayrıntılı bilgi için ilgili metinlere bakın.^{9,10}

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

IX PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler: Fluid Thioglycollate Medium

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

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

Kullanmadan önce, kapakları gevşetin ve tüpleri besiyeri indirgenene kadar (renksiz) yaklaşık olarak 5 dakika kaynar suda* bekletin. Isıdan uzaklaştırdıktan hemen sonra kapakları sıkıştırın. Besiyerinin oda sıcaklığına soğumasını bekleyin.

Genel kullanım için, örnekleri doğrudan besiyerine inoküle edin ve tüpleri 7 güne kadar 35 ± 2 °C'de inkübe edin.

Sterilite testi için, *USP*³ ve çeşitli kontrol dairelerinin tavsiyeleri takip edilmelidir.¹¹ Bu referans kaynaklar, sterilite testlerinde kullanılması gereken besiyeri - ürün oranının yanı sıra örnek alma ve test sonucu yorumlanmasının detaylarını belirtir. Sterilite testi için, zorunlu anaerobların ve mikroaerofilik organizmaların replikasyonunu garanti etmek için test kaplarındaki besiyerinin yeterli derecede indirgenmesi önemlidir. Eğer test örneği, besiyerini, mikrobiyal gelişimin kolayca görülemeyeceği kadar çok bulanıklaştırırsa, taze besiyerine aktarım yapılmalıdır.

***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

İnkübasyondan sonra, gelişim, aşılanmamış bir kontrole kıyasla türbidite varlığı ile kanıtlanır. Katı aeroblar broth'un yüzeyinde ince bir tabakada gelişme eğilimindedir; zorunlu anaeroblar yalnızca broth'un üst oksidize olmuş (pembe) tabakasının altındaki kısımda gelişecektir. Sıvıyı farklı seviyelerden dikkatle alarak, karışık bir kültürde farklı türleri ayırma yeteneğini artırmak mümkündür.

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 kültürlerine güvenmeyin. Bazı anaeroblar, daha hızlı gelişen fakültatif anaeroblar tarafından üretilen metabolik ürünler veya asitler tarafından inhibe edilebilir.¹²

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.

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.^{9,10,13}

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Piyasaya sürülmeden önce tüm Fluid Thioglycollate Medium lotları performans özellikleri açısından test edilmiştir. İnokülasyondan önce, lotun temsili örnekleri su banyosunda yaklaşık 5 dakika kaynatılarak indirgenir. Soğutulduktan sonra tüpler, 0,75 mL *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285), *B. vulgatus* (ATCC 8482), *Clostridium sporogenes* (ATCC 11437 ve 19404), *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538 ve ATCC 25923) ile inoküle edilir. *B. subtilis*, *B. fragilis*, *C. sporogenes*, *K. rhizophila*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* için inokulumlar, mL'de 100 veya daha az koloni oluşturu birim (CFU) içerecek şekilde seyreltilir. *B. vulgatus* için inokulum, CDC Anaerob %5 Koyun Kanı Agar plaklarında gelişen ve 10 – 100 CFU/mL elde etmek üzere Dekstroz ve İndikatör içermeyen Thioglycollate Medium'da ayarlanan kolonilerden hazırlanır. Kapaklar, *B. fragilis* ve *S. aureus* içeren tüpler için inokülasyondan hemen sonra sıkıca kapatılır; geri kalan tüplerin kapakları gevşetilir. Tüpler 35 ± 2 °C'de inkübe edilir. *B. fragilis* ve *S. aureus* (ATCC 25923) içeren tüpler, 48 saatlik inkübasyon içerisinde yoğun gelişme kanıtı gösterirler. Geri kalan organizmalar 3 günlük inkübasyon içinde orta ile yoğun gelişim gösterirler.

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No.	Açıklama
221195	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium, 8 mL, 10'lu boyut K tüp paketi
221196	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium, 8 mL, 100'lü boyut K tüp kutusu
299802	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium, 8 mL, 100'lü boyut K tüp kutusu (ink-jet etiket)
220888	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium, 20 mL, 10'lu boyut A tüp paketi
220889	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium, 20 mL, 100'lü boyut A tüp kutusu
299803	BD BBL Fluid Thioglycollate Medium, 20 mL, 100'lü boyut A tüp kutusu (ink-jet etiket)

XIV REFERANSLAR

1. Brewer, J.H. 1940. Clear liquid medium for the "aerobic" cultivation of anaerobes. J. Am. Med. Assoc. 115:598-600.
2. Vera, H.D. 1944. A comparative study of materials suitable for the cultivation of clostridia. J. Bacteriol. 47:59-70.
3. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2009. The U.S. pharmacopeia 32/The national formulary 27. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.

5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 12th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
11. Horwitz, W. (ed.). 2000. *Official methods of analysis of AOAC International*, 17th ed, vol.1. AOAC International, Gaithersburg, Md.
12. Reischelderfer and Mangels. 1992. In Isenberg (ed.), *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. 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