

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

GN (Gram Negative) Broth gram-negatif enterik organizmaların kültivasyonu için seçici bir zenginleştirme besiyeridir.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

- Aşağıda listelenen kültürler ile temsili örnekleri inoküle edin.
 - Steril tek kullanımlık 0,01 mL kalibre edilmiş özeleri kullanarak, tüpleri 10^{-1} seyreltilimlerle 18 ila 24 saatlik **Trypticase Soy Broth** kültürleri ile inoküle edin.
 - Tüpleri, kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de aerobik atmosferde inkübe edin.
- İnkübasyonun 18–24. saatinden sonra, tüm tüpleri MacConkey II Agar plaklarına alt kültürleyin. Plakları aerobik olarak 35 ± 2 °C'de 18–24 saat inkübe edin ve gelişim açısından gözlemleyin.
- Beklenen Sonuçlar

CLSI Organizmaları	ATCC	MacConkey II Agar Plaklarında Geri Kazanım
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotype Typhimurium	14028	Gelişim
* <i>Shigella sonnei</i>	9290	Gelişim
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Gelişim

*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.
- 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**

GN Broth *Salmonella* ve *Shigella* seçici zenginleştirme için kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

GN (Gram Negative) Broth Hajna tarafından klinik örneklerden *Salmonella* ve *Shigella* geri kazanımı için bir zenginleştirici besiyeri olarak geliştirilmiştir.^{1,2} Croft ve Miller, doğrudan sürme yöntemiyle ekim yerine bu besiyerini kullanarak daha fazla *Shigella* suşu izole etmeyi başarmıştır.³ Taylor ve Schelhart GN Broth'un, doğrudan sürme yöntemiyle ekime kıyasla *Shigella*'da %53 bir artış ve *Salmonella*'da %36 bir artış üreterek enterik patojenlerin izolasyonunu artırdığını bildirmiştir.⁴ GN Broth şu anda gıdaların mikrobiyolojik incelenmesinde kullanım için önerilir.⁵

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Enzimatik kazein ve hayvan dokusu dijestleri, bakteriyel gelişimi desteklemek için amino asit ve diğer azotlu maddeleri sağlar. Manitol ve dekstroz enerji kaynaklarıdır. Manitol, *Salmonella* ve *Shigella* gibi manitol fermante edici türlerin gelişimini arttırmak ve *Proteus* ve diğer dekstroz fermante edici bakterilerin gelişimini sınırlandırmak için dekstroza daha yüksek bir konsantrasyonda sunulur. Fosfat tamponları besiyerinin pH'ını sürdürmek için dahil edilir. Sodyum klorür ozmotik dengeyi korur. Sodyum sitrat ve sodyum desoksikolat gram-pozitif ve bazı gram-negatif bakterileri inhibe etmek için eklenir.

VII REAKTİFLER**GN Broth**

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

Kazeinin Pankreatik Dijesti	10,0 g	Sodyum Desoksikolat	0,5 g
Hayvan Dokularının Peptik Dijesti	10,0 g	Dipotasyum Fosfat	4,0 g
Dekstroz	1,0 g	Monopotasyum Fosfat	1,5 g
D-Mannitol	2,0 g	Sodyum Klorür	5,0 g
Sodyum Sitrat	5,0 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 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"⁶⁻⁹ 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.^{10,11} Örnekler, antimikrobiyal ajanlar verilmeden önce alınmalıdır. Örneklerin laboratuvara hızlı bir şekilde ulaştırılması için gerekli düzenlemeler yapılmalıdır.

IX PROSEDÜR

Sağlanan Malzemeler: GN Broth

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

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

Örnekler laboratuvara ulaşır ulaşmaz broth'u inoküle edin. Swab örnekleri doğrudan broth'a sokulabilir. Dışkı örnekleri için, tüp başına 1 g feçes veya 1 mL sıvı dışkı kullanın. Diğer klinik örneklerin veya gıda numunelerinin inokülasyonu ve işlenmesi hakkında bilgi için ilgili referanslara bakın.^{5,10-12}

Tüpleri gevşek kapaklı olarak 35 °C'de inkübe edin ve 6–8 saatlik inkübasyondan sonra ve tekrar 18–24 saatlik inkübasyondan sonra seçici ve diferansiyel besiyerlerine altkültürleyin.¹³

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

Broth besiyerindeki gelişim, aşılınmamış bir kontrole kıyasla türbiditye ile gösterilir. Teşhis için patojenleri izole etmek üzere uygun seçici ve diferansiyel besiyerinde 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. Detaylı bilgiler ve tavsiye edilen prosedürler için metinlere bakın.^{5,10-12}

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Taylor ve Schelhart tarafından yapılan bir çalışmada, üç zenginleştirme broth'unun (GN, Selenite ve Silliker's) ve üç plak besiyerinin (EMB, SS ve XLD) karşılaştırılması shigellae saptamasını geliştirecek besiyeri kombinasyonunu belirlemek için gerçekleştirilmiştir.¹⁴ Toplam 1.405 dışkı örneği gözlemlenen 158 salmonellae ve 49 shigellae izolatlarının dağılımı ile bu çalışma sırasında test edilmiştir. Zenginleştirme broth'ları plaklı besiyerleri üzerinde hem salmonellae hem de shigellae izolasyonunda iki katı bir artış sağlamıştır. Tüm brothlar salmonellae saptaması için eşit derece iyi performans göstermiştir, ancak GN ve Silliker's brothlarının Selenite broth'unun saptadığı shigellae izolatlarının iki katı broth saptamıştır.

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No.	Açıklama
221729	BD BBL GN Broth, 8 mL, 10'lu boyut K tüp paketi
221730	BD BBL GN Broth, 8 mL, 100'lu boyut K tüp kutusu

XIV REFERANSLAR

1. Hajna, A.A. 1955. A new specimen preservative for gram-negative organisms of the intestinal group. Public Health Lab. 13:59-62.
2. Hajna, A.A. 1955. A new enrichment broth medium for gram-negative organisms of the intestinal group. Public Health Lab. 13:83-89.
3. Croft, C.C., and M.J. Miller. 1956. Isolation of *Shigella* from rectal swabs with Hajna "GN" broth. Am. J. Clin. Pathol. 26:411-417.
4. Taylor, W.I., and D. Schelhart. 1967. Isolation of shigellae. IV. Comparison of plating media with stools. Am. J. Clin. Pathol. 48:356-362.
5. Downes, F.P. and K. Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
7. 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.
8. 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.

9. 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.
10. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenen (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
12. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
13. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
14. Taylor, W.I. and D. Schelhart. 1968. Isolation of Shigellae. V. Comparison of enrichment broths with stools. Appl. Microbiol. 16:1383-1386.

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