



BBL Trypticase Soy Agar



L007516 • Rev. 11 • Szeptember 2014.

MINŐSÉGELLENŐRZÉSI ELJÁRÁS

I BEVEZETŐ

A **Trypticase** Soy Agar (Tryptikáz szója tápleves) egy általános tápközeg, amely segíti mind az érzékeny, mind a nem érzékeny mikroorganizmusok szaporodását.

II A TELJESÍTMÉNY ELLENŐRZÉSE

1. A csövekben lévő tápközeg folyékonyra tételéhez tartsa a csöveket forrásban levő vízbe. Hűtse le a tápközeget 45–50°C-ra, adjon 1 mL steril defibrinizált juhvért két csőhöz (*Streptococcus* törzsekkel való inokuláláshoz), és öntse steril Petri-csészékbe. Alaposan keverje össze, hogy a vér alaposan elkeveredjen a tápközegekben, majd hagyja a tápközeget legkevesebb 30 percig szilárdulni.
2. Inokulálja a reprezentatív mintákat a lent felsorolt törzsekkel.
 - a. Egy 0,01 mL-es kalibrált kacs segítségével inokulálja az agar felületeket 18–24 órás **Trypticase** Soy levestenyészeten 10^{-1} -es hígításával. A jól elkülönülő telepek érdekében szélesztési módszerrel inokulálja a lemezeket.
 - b. Inkubálja a lemezeket vagy a ferde agarokat (laza kupakkal) $35 \pm 2^\circ\text{C}$ -on, aerob körülmények között. A véres lemezeket széndioxid jelenlétében kell inkubálni.
3. 18–24 óra, majd 42–48 óra elteltével vizsgálja meg a lemezeken és a csöveken a szaporodás és a pigmentáció jeleit. A véresagar lemezekben a hemolízist is vizsgálja.
4. Várt eredmények

Hozzáadott vér nélküli tápközegek.

**Shigella flexneri*

ATCC 12022

**Escherichia coli*

ATCC 25922

**Staphylococcus aureus*

ATCC 25923

Tápközegek hozzáadott steril defibrinizált juhvérrel (ferde agar).

**Streptococcus pneumoniae*

ATCC 6305

**Streptococcus pyogenes*

ATCC 19615

Szaporodás. A telepek közepesek–nagyok, szürkés fehérek, átlátszóak, enyhén domborúak és olykor nyálkásak.

Szaporodás

Szaporodás. A telepek közepesek–nagyok, nem átlátszóak, körkörös és épek, krémes sárga–arany pigmenttel.

Szaporodás. A telepek körül alfa hemolízis (zöld).

Szaporodás. A telepek körül béta hemolízis (világos - zavaros)

*A Felhasználói Minőségellenőrzéshez ajánlott törzs.

III KIEGÉSZÍTŐ MINŐSÉGELLENŐRZÉS

1. Ellenőrizze a csöveket a „Termék szavatossága” fejezetben leírtak szerint.
2. Szemrevételezze a reprezentatív csöveket, hogy nincs-e rajtuk fizikai sérülés, amely megakadályozza a felhasználást.
3. A termékhez megadott $7,3 \pm 0,2$ értékhez való közelítéshez a pH-t szobahőmérsékleten potenciometriásan mérje meg.
4. Inkubáljon nem inokulált reprezentatív csöveket 20–25°C-on és 30–35°C-on, és 7 nap után ellenőrizze az esetleges mikrobiológiai szennyeződéseket.

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

IV HASZNÁLATI JAVASLAT

A **Trypticase** Soy Agar tápközeget mind az érzékeny, mind a nem érzékeny mikroorganizmusok, beleértve az anaerob és aerob baktériumokat, izolálására és tenyésztésére használják, bár anaerobok tenyésztéséhez nem ez a legalkalmasabb tápközeg.

V ÖSSZEGZÉS ÉS MAGYARÁZAT

A **Trypticase** Soy Agar a tápanyag összetétele miatt évekig közkedvelt tápközeg volt. Ez az Amerikai Gyógyszerkönyvben (*The United States Pharmacopeia*) Soybean-Casein Digest Agar Medium (emésztett szója-kazein agar) tápközegként szereplő tápközeg az a tápközeg, amit az össz aerob mikrobiális részarány meghatározásához használnak a mikrobiális határérték tesztelésekben.¹

A tápközeget számos célra használják: törzstenyészetek fenntartásához, telepszámláláshoz, mikroorganizmusok izolálásához különféle mintákból, valamint a vértartalmú tápközegek alapanyagaként.²⁻⁴ Szerepel a víz-, élelmiszer-, valamint a szennyvízvizsgálati módszerek kézikönyvében.^{5,6}

VI AZ ELJÁRÁS MŰKÖDÉSI ELVE

A **Trypticase Soy Agar**ban a kazein és szója peptonok kombinációja rendkívül magas tápanyagtartalmat eredményez, amely biztosítja a mikroorganizmusok szerves nitrogén-, különösen az aminosav- és a hosszú láncú peptidszükségletét. A nátrium-klorid az ozmotikus egyensúlyt tartja fenn.

VII REAGENSEK

Trypticase Soy Agar

Hozzávetőlegesen 1 liter szűrt vízre vonatkoztatva*

Pankreatikusan emésztett kazein	15,0 g
Papainnal emésztett szójaliszt	5,0 g
Nátrium-klorid	5,0 g
Agar	15,0 g

*A végrehajtási előírások szerint beállítva és/vagy kiegészítve.

Figyelmeztetés

In vitro diagnosztizáláshoz.

A szorosan záródó kupakú csöveket óvatosan kell felnyitni, nehogy eltörjön az üveg és sérülést okozzon.

A klinikai mintákban patogén mikroorganizmusok, pl. Hepatitis és HIV-vírusok lehetnek jelen. Minden vérrel, illetve más testnedvvel fertőzött tételt a „Standard Precautions”⁷⁻¹⁰ előírásai szerint, illetve az intézmény irányelvei szerint kell kezelni. Használat után a mintákat, az edényeket, a lemezeket, a csöveket, illetve az egyéb fertőzött anyagokat kidobás előtt autoklávozással fertőtleníteni kell.

Tárolási feltételek

Átvétel után a csöveket 2–25°C-on, sötétben kell tárolni. Óvja a csöveket a megfagyástól és a túlmelegedéstől. A csomagot csak használat előtt bontsa fel. A csöveket lehetőleg ne érje fény. A csöveket a címke útmutatója szerint kell tárolni egészen a felhasználás előtti pillanatig, azokat a lejárat idő vége előtt inokulálni kell, és az előírt ideig kell inkubálni. Inokulálás előtt hagyja a tápközeget szobahőmérsékletre felmelegedni.

A termék szavatossága

Ne használja a csöveket, ha azokon mikrobiális szennyeződést, elszíneződést, kiszáradást, illetve a károsodás bármilyen más jelét észleli.

VIII A MINTÁK GYŰJTÉSE ÉS KEZELÉSE

A tenyésztéshez alkalmas minták kezelésének több módszere is van. A további eljárásokról bővebb információt olvashat az idevonatkozó szakirodalomban.^{3,11} A mintákat lehetőleg az antimikrobiális kezelés megkezdése előtt kell levenni. Elő kell készülni arra, hogy a minták mielőbbi elszállítása a laboratóriumba lehetséges legyen.

IX ELJÁRÁS

Szállított anyagok

Trypticase Soy Agar

Szükséges de nem szállított anyagok

Kiegészítő táptalajok, reagensek, a minőségellenőrzéshez szükséges mikroorganizmusok és laboratóriumi eszközök, az előírásoknak megfelelően.

A teszt kivitelezése

Alkalmazzon steril módszereket.

A csövekben lévő tápközeg folyékonyra tételéhez tartsa a csöveket forrásban lévő vízbe. Hűtse le 45–50°C-ra, majd szükség esetén adjon hozzá vért, és öntse steril Petri-csészékbe.

Általános felhasználáshoz, a mintát a laboratóriumba való beérkezés után a lehető leghamarabb szélessze. A szélesztett lemez elsősorban a vegyes flórájú mintákból való tiszta tenyészetek izolálására

szolgál. Amennyiben a tenyésztést közvetlenül a mintavételi tamponról végzi, forgassa meg a tampont a táptalaj kis felületén a széléhez közel, majd erről az inokulált területről szélesszen. Mivel számos patogén baktérium elsődleges izolálásához széndioxidra van szükség, a lemezeket 3-10%-os CO₂-tartalmú légkörben kell inkubálni. Inkubálja a lemezeket 35 ± 2°C-on 18-24 óráig.

A **Trypticase Soy Agar** ferdeagart elsősorban a tisztatenyészetek szaporításához és fenntartásához használják. Ezeket inokuláló kacs segítségével kell inokulálni, és a lemezekhez hasonló körülmények között kell inkubálni.

Felhasználói minőségellenőrzés

Lásd „A minőségellenőrzés módszere” című részt.

A minőségellenőrzési követelményeknek a helyi, állami és/vagy szövetségi szabályozásoknak és akkreditációs követelményeknek megfelelően, illetve a laboratórium standard minőségellenőrzési módszereivel összhangban kell eleget tenni. A megfelelő minőségellenőrzési gyakorlat kialakításánál tanácsos figyelembe venni az érvényes CLSI előírásokat és a CLIA szabályzatot.

X EREDMÉNYEK

Inkubálás után a legtöbb lemezen összefolyó telepeket fog találni. Mivel a szélesztés tulajdonképpen egy „hígításos” módszer, a szélesztés területén a mikroorganizmusok csökkenő számban vannak jelen. Ennek következtében találnia kell a mintában jelenlevő organizmusok különálló, izoláltan növő telepeiből is. Így az egyes mikroorganizmusok szaporodását szemi-quantitatívan, a szélesztés területén való szaporodás alapján meg lehet állapítani.

A hemolitikus reakciókat a vértartalmú tápközegre oltott mikroorganizmusok esetében kell megfigyelni.

A tiszta tenyészeteket tartalmazó ferdeagart fel lehet használni további vizsgálatokhoz, illetve törzstenyészetként.

XI AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

Az azonosításhoz a mikroorganizmusok tiszta tenyészetére van szükség. A végső azonosításhoz morfológiai, biokémiai és/vagy szerológiai tesztek elvégzése is szükséges. A további eljárásokról bővebb információkat olvashat az idevonatkozó szakirodalomban.^{3,11,12}

XII TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

A **Trypticase Soy Agar (TSA)** with 5% Sheep Blood tápközeget egy tápleves dúsított tenyészetet (Todd Hewitt) és egy Optical Immunoassay-t (optikai immunpróba) használó vizsgálatban kontrollként használták a hemolitikus streptococcus-fertőzés kimutatására. Összesen ötszázkét (502) mintát vizsgáltak. A TSA with 5% Sheep Blood érzékenysége és specifitása sorrendben 92,5% és 99,4% volt.³ Nguyen et al. **Trypticase Soy Agar** with 5% Sheep Blood tápközeget használt „arany standardként” a *Streptococcus* B csoport terhes nők alsó húgyúti szakaszából való kimutatásához.¹⁴ Egy másik tanulmányban Rossmann et al. sikeresen újraizolált *Lautropia mirabilis* **Trypticase Soy Agar** with 5% Sheep Blood tápközegen HIV-vírussal fertőződött gyermekek szájüregéből.¹⁵ A tanulmányba bevont 85 gyermek közül 35 (41,4%) volt pozitív *L. mirabilis*-re. Isenberg et al. **Trypticase Soy Agar** with 5% Sheep Blood tápközeget használt kontrollként egy olyan tanulmányban, melynek célja az *Enterococcus* kimutatása volt egy szelektív tápközegen.¹⁶ Kétszázöt (250) klinikai mintából izolált streptococcus D törzset és 8, a National Communicable Disease Center (Atlanta, Ga.) által üldött törzset vontak be a tanulmányba. Kantor et al. steril ásványi olajjal fedett **Trypticase Soy Agar** ferdeagaron tartott fenn törzstenyészeteket szobahőmérsékleten egy, a nem fermentáló gram-negatív baktériumok klinikai laboratóriumban való azonosítását célzó tanulmányban.¹⁷

XIII KISZERELÉSEK

Kat. sz. Leírás

- | | |
|--------|---|
| 221082 | BD BBL Trypticase Soy Agar Deeps (Öntőcsövek), 20 mL, 10 db A méretű cső dobozonként |
| 221086 | BD BBL Trypticase Soy Agar Slants , 10 db K méretű cső dobozonként |
| 221087 | BD BBL Trypticase Soy Agar Slants , 100 db K méretű cső dobozonként |

XIV IRODALOMJEGYZÉK

1. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2006. The U.S. pharmacopeia 29/The national formulary 24-2006. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. Chapin, K.C., and P.R. Murray. 1999. Media, p. 1687-1707. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Clesceri, L.S., A.E. Greenberg, and A.D. Eaton (ed.) 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. 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.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Fries, S.M. 1995. Diagnosis of group A streptococcal pharyngitis in a private clinic: comparative evaluation of an optical immunoassay method and culture. J. Ped. vol. 126, number 6.
14. Nguyen, T.M. et al. 1998. Detection of group B streptococcus: comparison of an optical immunoassay with direct plating and broth-enhanced culture methods. J. Matern. Fetal. Med. Jul-Aug; 7(4):172-176.
15. Rossmann, S.N. et al. 1998. Isolation of *Lautropia mirabilis* from oral cavities of human immunodeficiency virus infected children. J. Clin. Microbiol. 36:1756-1760.
16. Isenberg, H.D., D. Goldberg, and J. Sampson. 1970. Laboratory studies with a selective medium. Appl. Microbiol. Sept. 1970, p.433-436.
17. Kantor, L.T., D.K. Spyros, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. Amer. J. Med. Tech. vol. 41, no. 1.

Műszaki szerviz BD Diagnostics: Az Amerikai Egyesült Államokon kívül vegye fel a kapcsolatot a BD képviselőjével, vagy munkatársainkkal a www.bd.com/ds címen.



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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.