

KALİTE KONTROLÜ PROSEDÜRLERİ**I GİRİŞ**

Trypticase Soy Agar, güç üreyen ve güç üremeyen mikroorganizmaların gelişimini destekleyen genel amaçlı bir besiyeridir.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

1. Tüp kaplardaki besiyerini kaynar suda ısıtarak sıvılaştırın. 45 ila 50 °C'ye soğutun, iki tüpe (*Streptococcus* suşları ile inokülasyon için) 1 mL steril defibrinleştirilmiş koyun kanı ekleyin ve steril Petri kutularına dökün. Kanı besiyerinde eşit dağıtmak için iyice karıştırın ve en az 30 dakika katılaşmaya bırakın.
2. Aşağıda listelenen kültürler ile temsili örnekleri inoküle edin.
 - a. 0,01 mL'ye kalibre edilmiş bir öze ile 18 ila 24 saatlik **Trypticase** Soy Broth kültürlerinin 10⁻¹ oranında seyreltimlerini kullanarak agar yüzeylerini inoküle edin. İyi izole edilmiş kolonilerin bulunmasını sağlamak için plaklara sürme yöntemi ile inokülasyon yapın.
 - b. Plakları veya tüp slantları (kapakları gevşek bir halde) 35 ± 2 °C'de aerobik atmosferde inkübe edin. Kan plakları karbondioksit varlığında inkübe edilmelidir.
3. Plakları veya tüpleri 18 ila 24 ve 42 ila 48 s sonra gelişim ve pigmentasyon açısından inceleyin. Kan agar plaklarını hemoliz açısından inceleyin.
4. Beklenen Sonuçlar

Organizmalar**ATCC Geri Kazanım**

Kan eklenmeyen besiyeri.

**Shigella flexneri*

12022

Gelişim. Orta ila geniş, grimsi-beyaz, yarı saydam, hafif konveks ve mukoid olabilen koloniler.

**Escherichia coli*

25922

Gelişim

**Staphylococcus aureus*

25923

Gelişim. Orta ila geniş, opak, dairesel, tüm, krem-sarı ila altın rengi pigmentli koloniler.

Steril defibrinleştirilmiş koyun kanı eklenen besiyeri (tüp kaplar).

**Streptococcus pneumoniae*

6305

Gelişim. Alfa hemoliz (yeşil) zonları ile çevrili koloniler.

**Streptococcus pyogenes*

19615

Gelişim. Beta hemoliz zonları ile çevrili koloniler (berrak ila hafif bulanık).

*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. 7,3 ± 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**

Trypticase Soy Agar, anaeroblar için tercih edilen besiyeri olmamasına rağmen, anaerobik ve aerobik bakterileri de kapsayan, güç üreyen ve güç üremeyen mikroorganizmaların izolasyonu ve kültürasyonu için kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

Trypticase Soy Agar'ın besin bileşimi bunu uzun yıllar popüler bir besiyeri yapmıştır. *Birleşik Devletler Farmakopesi* mikrop sınır testi prosedürlerinin toplam aerobik mikrop sayımı kısmında Soybean-Casein Digest Agar Medium olarak belirlenen besiyeridir.¹

Bu besiyeri, stok kültürlerin idamesi, plak sayımı, çeşitli örnek tiplerinden mikroorganizma izolasyonu gibi çeşitli amaçlarla ve kan içeren besiyeri için baz olarak kullanılır.²⁻⁴ Su, atık su ve gıdaların incelenmesi için farmakope yöntemlerine dahil edilmiştir.^{5,6}

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Trypticase Soy Agar'daki kazein ve soya peptonları, organik nitrojen, özellikle amino asitler ve daha uzun zincirli peptidler sağlayarak besiyerini oldukça besleyici kılar. Sodyum klorür ozmotik dengeyi korur.

VII REAKTİFLER

Trypticase Soy Agar

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

Kazeinin Pankreatik Dijesti	15,0 g
Soya Fasulyesi Yemeği Papaik Dijesti	5,0 g
Sodyum Klorür	5,0 g
Agar	15,0 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 virüsü ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü de dahil olmak üzere patojenik mikroorganizmalar bulunabilir. Kan veya diğer vücut sıvılarıyla kontamine olan tüm öğelerle çalışırken, "Standard Precautions" (Standart Önlemler)⁷⁻¹⁰ ve kurumsal düzenlemeler takip edilmelidir. Kullanımdan sonra, hazırlanan tüpler, örnek kapları ve diğer kontamine olmuş malzemeler atılmadan önce otoklavlanarak sterilize edilmelidir.

Saklama Talimatları: Alındıktan sonra, tüpleri karanlıkta 2 ila 25 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve fazla 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.^{3,11}

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

IX PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler: Trypticase Soy Agar

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

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

Tüp kaplardaki besiyerini kaynar suda ısıtarak sıvılaştırın. 45 ila 50 °C'ye getirin, isteniyorsa kan ekleyin ve steril Petri kutularına dökün.

Genel kullanım için, örnek laboratuvara ulaştığında olabildiğince kısa sürede örneği sürme yöntemi ile ekin. Sürme plağı, birincil olarak karışık flora içeren örneklerden saf kültürleri izole etmek için kullanılır. Alternatif olarak, eğer materyal doğrudan swab'dan yetiştirilecekse, swab'ı kenarın yüzeyinde küçük bir alanın üzerinde döndürün; ardından bu inoküle edilmiş alandan sürme yöntemi ile ekim yapın. Birçok patojen birincil izolasyonda karbondioksit gerektirdiğinden, plaklar yaklaşık olarak %3 –10 CO₂ içeren bir atmosferde inkübe edilebilir. Plakları 18 –24 s 35 ± 2 °C'de inkübe edin.

Trypticase Soy Agar tüp slantları, saf kültürlerin gelişimi ve idamesi için birincil olarak kullanılır. Bir inokülasyon özesi ile inoküle edilmeli ve plak besiyeri ile aynı koşullar altında inkübe edilmelidir.

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.

X SONUÇLAR

İnkübasyondan sonra, plakların çoğu birleşik gelişim alanı gösterecektir. Sürme yöntemi ile ekim yapma prosedürü, aslında, bir "seyreltme" tekniği olduğundan, sürme yöntemi ile ekim yapılan alanlarda sınırlı miktarda organizma birikir. Dolayısıyla bu alanlardan bir veya daha fazlası, örnekte bulunan organizmaların izole kolonilerini göstermelidir. Ayrıca, her organizmanın gelişimi, sürme yöntemi ile ekim yapılan her alanda gelişim temelinde yarı kantitatif olarak puanlanabilir.

Kan içeren besiyeri üzerine inoküle edilen organizmalar için hemolitik reaksiyonlar kaydedilmelidir.

Saf kültürleri içeren tüp slant, ek çalışmalar için veya istenirse stok kültür olarak kullanılabilir.

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.^{3,11,12}

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

%5 Koyun Kanı bulunan **Trypticase** Soy Agar (TSA), β -hemolitik streptokokal enfeksiyonun teşhisi için broth ile çoğaltılan kültür (Todd Hewitt) ve Optik İmmüno test yöntemi kullanılan bir çalışmada kontrol olarak kullanılmıştır. Beş yüz iki (502) örnek test edilmiştir. %5 Koyun Kanı bulunan TSA sırasıyla %92,5 ve %99,4 duyarlılığa ve özgünlüğe sahiptir.¹³ Nguyen ve ekibi, %5 Koyun Kanı bulunan **Trypticase** Soy Agar'ı gebe kadınların alt genital yollarından grup B *Streptococcus* tespitinde "altın standart" olarak kullanmıştır.¹⁴ Başka bir çalışmada Rossmann ve ekibi, insan immün yetmezlik virüsü ile enfekte olmuş çocukların oral boşluklarından *Lautropia mirabilis*'i %5 Koyun Kanı içeren **Trypticase** Soy Agar üzerinde başarılı şekilde tekrar izole etmiştir.¹⁵ Bu çalışmada değerlendirilen 85 çocuğun 35'i (%41,4) *L. mirabilis* için pozitifdir. Isenberg ve ekibi, %5 Koyun Kanı içeren **Trypticase** Soy Agar'ı çalışma altında seçici besiyerinden *Enterococcus*'un geri kazanılmasını değerlendirmek için kontrol olarak kullanmıştır.¹⁶ Klinik materyalden izole edilen iki yüz elli (250) grup D streptokok suşu ve National Communicable Disease Center'dan (Atlanta, Ga.) elde edilen 8 suş kullanılmıştır. Kantor ve ekibi, klinik laboratuvarıda fermentatif olmayan gram negatif bakterilerin teşhis edilmesi hakkında bir çalışma yapmak için steril mineral yağı ile kaplı **Trypticase** Soy Agar gelişimleri kullanarak stok kültürlerini oda sıcaklığında idame ettirmiştir.¹⁷

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No.	Açıklama
221082	BD BBL Trypticase Soy Agar Deepes (Pour Tubes), 20 mL, 10'lu boyut A tüp paketi
221086	BD BBL Trypticase Soy Agar Slants, 10'lu boyut K tüp paketi
221087	BD BBL Trypticase Soy Agar Slants, 100'lü boyut K tüp kutusu

XIV REFERANSLAR

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. Tover, 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.

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