BD Tryptic Soy Agar

AVSEDD ANVÄNDNING

BD Tryptic Soy Agar (sojaagar), som levereras i flaskor, är ett delvis färdigställt medium som, efter att det hällts i Petri-skålar eller provrör, främjar växt av såväl lättodlade som måttligt svårodlade mikroorganismer. Inom klinisk mikrobiologi används det för att isolera patogener från kliniska prover, men kan även användas för odling av bakteriestammar. Efter komplettering med blod kan det användas som primärt isoleringsmedium inom klinisk mikrobiologi.

PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV METODEN

Mikrobiologisk metod.
Tack vare näringssammansättningen hos Tryptic Soy Agar har detta under många år varit ett populärt odlingsmedium. Det är detta medium som specificeras såsom soja-kaseinhydrolysat-agar i United States Pharmacopeia och Europeiska farmakopén för användning vid räkning av totalt antal aerober vid test av renhetsgrad.[1,2] Det färdiga mediet används för flera olika ändamål, inklusive bevarande av stamkulturer, räkning på platta och isolering av mikroorganismer från en rad olika material.[3-5] Mediet finns upptaget i kompendier med metodbeskrivningar för undersökning av vatten, spillvatten och livsmedel.[6,7]
Användningen av detta odlingsmedium inom klinisk mikrobiologi är begränsad, eftersom det inte främjar växt av en rad olika svårodlade bakterier. Eftersom Tryptic Soy Agar inte innehåller växtfaktorerna X och V kan det dock användas för bestämning av kraven på dessa växtfaktorer hos Haemophilus-speciesisolat, genom att remsor med faktorerna X, V och XV läggs på inokulerade TSA-plattor.[8] **BD Trypticase Soy Agar** kan också användas som medium för bevarande eller renodling av referensstammar, t.ex. *Enterobacteriaceae* och stafylokocker. Mediet utan tillsats är inte avsett att användas som odlingsmedium för primärisolering i kliniska sammanhang. Efter tillsats av blod (t.ex. 5 % fårblod) kan det användas för isolering av bakterier från kliniska prover.[9,10]

Kombinationen av kasein och soja-peptoner i **BD Tryptic Soy Agar** gör mediet näringsrikt genom att tillhandahålla organiskt kväve, framförallt aminosyror och längre peptider. Den osmotiska jämvikten bevaras med hjälp av natriumklorid. **BD Tryptic Soy Agar** (medium på flaska) är delvis färdigställda (=halvfärdiga) medier som tillhandahålls i flaskor ur vilka användaren kan bereda medier på plattor eller i rör. dessa medier tillverkas av **Difco** dehydrerat medium.

REAGENSER

BD Tryptic Soy Agar
Sammansättning* per liter aqua purif.

Bacto™ Tryptone (Hydrolyserat kasein framställt med pankreasenzym)	15,0 g
Bacto Soytone (Hydrolyserat sojamjöl framställt med papain)	5.0
Natriumklorid	5.0
Agar	15.0

pH 7,3 ± 0,2
*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

FÖRSIKTIGHETSBEAKTANDEN

IVD .Endast för professionellt bruk.
Flaskor får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller andra tecken på försämring. För färdigställande av detta delvis färdigställda medium på flaska ska metoderna och varningarna som beskrivs under

FÖRFARANDE - Reagensberedning följas Se skriften **ALLMÄNNA INSTRUKTIONER FÖR ANVÄNDNING** för information om aseptiska förfaranden vid hantering, biorisker och bortskaffning av använd produkt.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara flaskorna mörkt vid 5 till 25 °C efter mottagandet. Undvik nedfrysning och överhettning. Mediet kan användas fram till utgångsdatum och inkuberas under rekommenderad inkuberingsperiod. Flaskor från öppnade förpackningar kan användas fram till utgångsdatum. Öppnade flaskor måste användas omedelbart. För att bereda plattor eller rör från flaskmediet, måste detta först omvandlas till vätska (se **FÖRFARANDE - Reagensberedning**). Mediet ska inte omvandlas till vätskeform fler än en gång efter att det stelnat.

KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

Medium utan tillsats: Bered plattor eller provrör av det delvis färdigställda mediet (se **FÖRFARANDE - Reagensberedning**), utan tillsats av exempelvis blod. Inokulera plattorna eller provrören med de teststammar som anges i nedanstående tabell. För vidare information, se dokumentet **ALLMÄNNA INSTRUKTIONER FÖR ANVÄNDNING**. Bakterier inkuberas aerobt i 18 till 48 h vid 35 +/- 2°C. *Aspergillus niger* inkuberas aerobt i 3 till 4 dagar vid 25 till 28°C. Enligt den amerikanska och europeiska farmakopén skall mediet inkuberas vid 30 till 35°C.[1,2]

Stammar	**Resultat**
Aspergillus niger ATCC 16404	Växt
Bacillus subtilis ATCC 6633	Växt
Escherichia coli ATCC 25922	Växt
Staphylococcus aureus ATCC 6538	Växt
Ej inokulerad	Ljusrosa till rosa, något opaliserande

Medium med tillsats av 5 % defibrinerat fårblod Bered plattor eller provrör av det delvis färdigställda mediet (se **FÖRFARANDE - Reagensberedning**) och tillsätt 5 % fårblod efter avsvalnande till 48 till 50° C. Det rekommenderas att mediet efter tillsats testas enligt NCCLS-standarden M22-A2.[11] Inkubera stammarna i 20 till 24 h i aerob atmosfär anrikad med koldioxid.

Stammar	**Resultat**
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	Växt, beta-hemolys
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305	Växt, alfa-hemolys
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Växt; kan, men behöver inte vara beta-hemolytisk
Ej inokulerad	Röd (blodfärg)

FÖRFARANDE

Tillhandahållet material

BD Tryptic Soy Agar (delvis färdigställt medium i flaska). Se **TILLGÄNGLIGHET** för fyllningsvolymer och förpackningsstorlekar.

STERILE

Material som ej medföljer

Autoklav (sätt på 100 +/- 2 °C), ångkokare eller värmeplatta; vattenbad (48 – 50 °C); defibrinerat blod (endast för beredning av blodplattor), sterila glasbehållare och sterila Petriskålar eller rör i plast.
Extra reagenser och laboratorieutrustning efter behov.

Reagensberedning

Omvandla **BD Tryptic Soy Agar** (medier på flaska) till vätska genom att värma den i en autoklav eller ångkokare. Flaskan kan även ställas i en behållare med vatten som placeras på en värmeplatta för att låta vattnet koka. **Lossa på locket något före upphettning för att tillåta tryckutjämning.**

Varning: användning av mikrovågsugn rekommenderas inte för omvandling av mediet till vätska. Sätt inte flaskor innehållande medium med metallock i mikrovågsugn.

Om en autoklav används ska temperaturen sättas på högst 100 +/- 2 °C, eftersom för hög värme kan förstöra ingredienserna och eventuellt leda till sämre mikrobiologiska resultat. Om värmeplatta och/eller vattenbad används ska kokningen pågå tillräckligt länge så att allt medium övergår till vätskeform. Tidsåtgången till fullständig omvandling till vätska kan variera väsentligt och beror på uppvärmningsanordningens faktiska temperatur före användning, effekt, storlek samt mängden medium och dess temperatur i behållaren. Det rekommenderas att tidsåtgången för omvandling till vätska testas och antecknas vid första tillfället.
Efter fullständing omvandling till vätska ska behållaren avlägsnas från uppvärmningsanordningen och sättas i ett vattenbad med temperatur 48 to 50 °C.
Varning: Bär värmetåliga handskar! Sätt inte den heta behållaren i ett isbad eller i kallt vatten för att påskynda avkylningen eftersom det kan göra att glaset spricker. Risk för allvarlig brännskada!
Låt behållaren stå i vattenbadet tillräckligt länge så att det färdigställda mediet svalnar till inställd temperatur.
Om defibrinerat blod (t.ex. 5 % fårblod) eller andra värmekänsliga tillsatser (vilka måste få nå rumstemperatur innan de används) tillsätts, får mediets temperatur inte överstiga 50° C. Använd aseptisk teknik när tillsatsen sätts till mediet och vid upphällning på plattor! Använd sterila skålar och rör. Blanda mediet försiktigt efter tillsatsen tillförts, men undvik att skum eller bubblor bildas. Häll mediet på plattorna om inokulering på ytan önskas. För en vanlig skål på 90 till 100 mm är 19 till 21 mL en lagom volym. Låt det färdigställda mediet stelna, vänd plattorna och låt torka i rumstemperatur tillräckligt länge (för att plattorna ska stelna helt, låt stå över natt i 18 till 23 °C). Lägg i nya plastpåsar och förvara vid 2 to 8 °C. Färdiga plattor med detta medium kan användas i 5 till 7 dagar.

Om plattgjutningsmetoden ska användas, ska materialet som ska testas eller en spädning därav tillsättas i en tom skål. Häll över medium, vrid plattan försiktigt för att blanda och låt stelna helt.

För beredning av skivor i rör, tillsätt korrekt mängd medium i vätskeform, avkylt till 48 till 50 °C, i rören och låt stelna helt i önskat snedläge. Tätt förslutna rör med skruvlock kan användas i 2 till 3 veckor om de förvaras mörkt och i rumstemperatur eller vid 2 to 8 °C.
Mediets ytor får inte vara för våta före användningen.

Medium på flaska ska endast omvandlas till vätska en gång. Stelnade rester ska inte omvandlas till vätska en andra gång eftersom upprepad uppvärming förstör ingredienserna i mediet, vilket leder till otillfredsställande mikrobiologiska resultat.

Provtyper
Medium utan tillsats som hälls i Petriskålar har ett antal olika användningsområden, t.ex. för läkemedelstester. Inom klinisk mikrobiologi får det inte användas för att isolera patogener från kliniska prover, om inte blod tillsätts (t.ex. 5 % fårblod). efter tillsats av 5 % blod kan mediet på platta användas universellt för primärisolering av patogener från alla typer av prover. Se referenserna för ytterligare detaljer avseende provtagning och bearbetning.[4,10] Mediet får, i sin form av skivor i provrör, inte användas direkt för kliniska prover, utan endast för växt och underhåll av bakterieodlingar.

Testförfarande
Agarytorna på det färdigställda mediet (i Petri-skålar eller provrör) ska före användningen vara jämna och fuktiga, men inte alltför fuktiga eftersom det kan leda till sammanhängande växtmönster.
Se lämpliga referenser för metodbeskrivningar.[2,6,7]
Plattor med tillsats av blod: Stryk ut provet så snart som möjligt efter att det ankommit till laboratoriet. Plattan med utstryket används primärt för isolering av renkulturer från prover med blandflora. Vid odling direkt från provtagningspinne rullas istället pinnen över ett litet ytområde nära kanten varefter plattan stryks från det inokulerade området. Inkubera plattorna eller rören under önskade förhållanden.

- Vid användning för kliniska prover, inkubera i 18 till 48 timmar (eller längre om det behövs) vid 35 +/- 2° C eller vad som är lämpligt för organismerna.
- Vid användning för hygienövervakning, inkubera vid 30 till 35 °C i upp till 5 dagar.

Vid användning för farmaceutiska material, se referenserna.[1,2]

Skivmediet i rör används till odling och underhåll av bakteriekulturer. Stryk på stammen direkt efter suspendering i sterilt vatten eller fysiologisk koksaltlösning på hela skivans yta. Inkubera som lämpligt för isolatet ifråga. Under inkuberingstiden ska locken lossas något för att tillåta luftväxling. Efter inkubering och vid förvaring ska locken skruvas på tätt.

Resultat

Efter inkubering kan det finnas ett område med sammanhängande växt på plattorna. Eftersom strykningsproceduren egentligen är en "spädningsteknik" minskar antalet mikroorganismer som avsätts på de strykta områdena. Följaktligen bör en eller flera av dessa områden visa isolerade kolonier av organismerna som finns i provet. Dessutom kan växt av varje enskild organism räknas semikvantitativt på basen av växt i vart och ett av de strykta områdena.

- Plattgjutningsmetoden: Se relevanta referenser.[1,2,6,7]

Skivor som inokulerats med korrekt inokulat visar växt över hela ytan. Rör kan förvaras i kylskåp i flera veckor utan förlust av odlingens viabilitet. Överlevnadstiden beror på den individuella stammen.

Antal och typ av organismer som växer på det färdigställda mediet berett av **BD Tryptic Soy Agar** (medier på flaska) är mycket stort. Därför kan inga specifika detaljer avseende deras utseende anges här. Se referenserna.[4,9,10]
Från isolaten som fås från mediet måste lämpliga sekundärkulturer iordningställas för att tillåta vidare differentiering och identifiering.

KLINISKA PRESTANDA OCH PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR

BD Tryptic Soy Agar används vid en rad olika förfaranden inom industriell mikrobiologi, t.ex. vid renhetstest och inom mikrobiologisk testning av vatten och livsmedel.[1-3,6,7]
Tryptic Soy Agar utan tillsats används för odling av många mindre svårodlade bakterier, t.ex. *Enterobacteriaceae*, icke-fermenterande gramnegativa stavar (*Pseudomonas* m.fl.), enterokocker, stafylokocker, sporbildande bakterier (*Bacillus* och besläktade genera), samt andra organismer med liknande växtkrav. Medierna lämpar sig inte för odling eller isolering av mycket svårodlade bakterier, såsom *Neisseria*- eller *Haemophilus*-species, eller andra organismer med särskilda näringskrav och utgör inte optimala medier för isolering av svårodlade strikta anaerober. Användning inom klinisk mikrobiologi begränsas därför till specialtester, såsom differentiering av Haemophilus med hjälp av faktor X-, V- och XV-remsor.8

Efter komplettering med blod (t.ex. 5 % fårblod) används Tryptic Soy Agar ofta som primärt isoleringsmedium för aeroba bakterier inom klinisk mikrobiologi. Se referenser för detaljer.[3-5,8-10]

Tryptic Soy Agar utan tillsats innehåller inga sammansättning som aktivt neutraliserar desinfektionsmedel eller konserveringsmedel. Vid testning av material innehållande sådana föreningar eller av ytor som desinficerats före testning rekommenderas användning av Tryptic Soy Agar med lecitin och polysorbat, eller att mediet kompletteras på lämpligt sätt.

REFERENSER

1. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 1994. The U.S. Pharmacopeia 24/The national formulary 19-1999. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
2. Council of Europe, 2002. European Pharmacopoeia, 4th edition, and Supplement 4.2. European Pharmacopoeia Secretariat. Strasbourg/France.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.

4. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
5. Nash, P., and M.M. Krenz. 1991. Culture media. *In:* A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Eaton, A.D., L.S. Clesceri, and A.E. Greenberg (ed.). 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
7. 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.
8. Campos, J.M. 1995. *Haemophilus*. *In:* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. NCCLS M2-A7. 1996. Quality assurance for commercially prepared microbiological culture media - 2nd edition; approved standard. National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Wayne, PA, USA.

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

BD Tryptic Soy Agar (delvis färdigställt medium i flaska)

Kat. nr. 256665	cpu 10	100 mL fyllningsvolym; i 250 mL sirapsflaska
Kat. nr. 257105	cpu 12	250 mL fyllningsvolym; i 500 mL platt flaska
Kat. nr. 257106	cpu 10	500 mL fyllningsvolym; i 500 mL sirapsflaska
Kat. nr. 257240	cpu 4	400 mL fyllningsvolym; i 500 mL laboratorieflaska

YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.

BD Diagnostic Systems
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com

BD and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
Bacto is a trademark of Difco Laboratories, division of Becton, Dickinson and Company.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
© 2003 Becton, Dickinson and Company