

Tryptikázový sojový bujón (TSB)

LC1224

Pro všeobecné laboratorní použití a pro kultivaci rychlokvašených mikroorganismů.

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Obohacení	Obecné použití
Selektivní obohacování	<i>Bacillus cereus</i>
Diluent	Obecné použití

Odvětví aplikace: Farmacie / Veterinární medicína / Kosmetický průmysl / Klinická medicína / Potravinářství / Testování citlivosti na antimikrobiální látky / Kontrola kvality finálních výrobků

Předpisy: USP / ISO 10273 / ISO 11133 / Evropský lékopis / ISO 21871



Principy a použití

Tryptikázový sojový bujón (Trypticasein Soy Broth) (TSB) je médium velmi bohaté na živiny pro všeobecné použití v mikrobiologických laboratořích. Podporuje hojný růst náročných organismů, jako jsou pneumokoky, streptokoky, neisserie atd.

Toto médium se často používá v mnoha diagnostických výzkumných nebo mikrobiologických postupech. Používá se například k izolaci a testování citlivosti všech typů patogenů a k výrobě antigenů pro aglutinační a sérologické testy.

Obsahuje dva peptony jako bohaté zdroje dusíku získané enzymatickou hydrolýzou kaseinu a sójových bílkovin. Podporuje růst velkého množství mikroorganismů, včetně náročných aerobů a anaerobů. Sójový pepton obsahuje také přírodní cukry, které podporují růst bakterií. Glukóza je zdrojem sacharidů a uhlíku. Chlorid sodný dodává základní elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu a hydrogenufosforečnan draselný je pufovací činidlo.

Norma ISO 21871 doporučuje přidání roztoku polymyxinu pro stanovení počtu životaschopných presumptivních bakterií *Bacillus cereus* (médium TSPB). Norma ISO 10273 jej doporučuje k uchování pozitivních kmenů patogenních Yersinií jako zmrazených rezervních kultur.

Evropský lékopis USP doporučuje toto médium v odstavci 2.6.12: "Mikrobiologické vyšetření nesterilních výrobků: Mikrobiologická zkouška" pro přípravu vzorků pro vyšetření TAMC a TYMC ve výrobcích a v odstavci 2.6.13 "Mikrobiologické vyšetření nesterilních výrobků: Zkouška na stanovené mikroorganismy" pro přípravu vzorků pro vyšetření stanovených mikroorganismů. Rovněž v odstavci 2.6.1: "Sterilita" pro zkoušku sterility plísni a aerobních bakterií.

V případě potřeby lze snadno přidat antibiotika a další doplňky nebo inhibiční látky.

Složení v g/l

Monohydrát glukózy	2,5	Pankreatický digestát kaseinu	17
Chlorid sodný	5	Papaikový digestát ze sójové moučky	3
Hydrogenfosforečnan draselný	2,5		

Typické složení v g/l * Upraveno a/nebo doplněno podle potřeby tak, aby splňovalo kritéria účinnosti.

Příprava

Suspendujte 30 g média v jednom litru destilované vody. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Rozlijte do vhodných nádob a sterilizujte v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Větší množství mohou vyžadovat delší dobu sterilizace, ale teplota by se neměla zvyšovat.

Návod k použití

" Pro klinickou diagnostiku jsou typem vzorků bakteriální kmeny izolované z jiných médií.

- Naočkejte médium požadovaným kmenem 10-100 CFU.
- Inkubujte v aerobních podmínkách při teplotě 35 ± 2 °C po dobu 18-72 hodin.
- Odečet a interpretace výsledků.

" Pro jiná použití, na která se nevztahuje označení CE:

Vyčíslení nízkého počtu životaschopných presumptivních bakterií *Bacillus cereus* (médium TSPB) podle ISO 21871:

- Dávkujte do zkumavek v množství 10 ml z média s dvojitou koncentrací nebo 9 ml z média s jednoduchou koncentrací.
- Bezprostředně před použitím přidejte buď 200 µl (médium s dvojitou koncentrací), nebo 100 µl (médium s jednoduchou koncentrací) z roztoku polymyxinu 500000 UI (přibližně 0,05 gr /50 ml sterilní vody).

Zkoumání TAMC a TYMC ve výrobcích podle Evropského lékopisu:

Membránová filtrace:

- Připravte vzorek produktu suspendováním, rozpuštěním nebo zředěním zkoumaného produktu v tryptikázovém sójovém bujónu.
- Přeneste příslušné množství vzorku na membránový filtr.
- Umístěte membránu na povrch Trypticasein Soy Agar (LC1068) v případě TAMC nebo Sabouraud Dextrose Agar (LC1024) v případě TYMC.
- Inkubujte destičku s Trypticasein Soy Agar (LC1068) při teplotě 30-35 °C po dobu 3-5 dnů a destičku se Sabouraud Dextrose Agar (LC1024) při teplotě 20-25 °C po dobu 5-7 dnů.

Metody počítání misek:

- Připravte vzorek produktu suspendováním, rozpuštěním nebo zředěním zkoumaného produktu v tryptikázovém sójovém bujónu.
- Naočkejte destičky Trypticasein Soy Agar (LC1068) v případě TAMC nebo Sabouraud Dextrose Agar (LC1024) v případě TYMC metodou nalití na destičku nebo metodou povrchového rozprostření.
- Inkubujte destičky s Trypticasein Soy Agar (LC1068) při teplotě 30-35 °C po dobu 3-5 dnů a destičky se Sabouraud Dextrose Agar (LC1024) při teplotě 20-25 °C po dobu 5-7 dnů.
- Vyberte desky odpovídající danému ředění a vykazující nejvyšší počet kolonií menší než 250 (TAMC) nebo 50 (TYMC).

Metoda nejpravděpodobnějšího čísla (pouze pro TAMC):

- Připravte a naředte vzorek produktu, který má být zkoumán, a naočkejte jej do zkumavek s tryptikaseinovým sójovým bujónem.
- Všechny zkumavky inkubujte při teplotě 30-35 °C po dobu 3-5 dnů.
- Pro každou úroveň ředění zaznamenejte počet zkumavek, které vykazují růst, a určete nejpravděpodobnější počet mikroorganismů.

Test sterility na plísň a aerobní bakterie podle Evropského lékopisu:

- Připravte výrobek, který má být zkoumán.
- Přeneste přípravek na membránový filtr a přidejte membránu do Trypticasein Soy Broth nebo přímo naočkejte příslušné množství přípravku do Trypticasein Soy Broth (objem přípravku nesmí být větší než 10 % objemu média).
- Inkubujte médium při teplotě 20-25 °C nejméně 14 dní.
- Pokud nedojde k růstu mikroorganismů, je výrobek sterilní.

Kontrola kvality

Rozpustnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
bez zbytků	Jemný prášek	Béžová	Jantarová	7,3 ± 0,2

Mikrobiologický test

Podle Evropského lékopisu, USP, USP, 2.6.12 "Mikrobiologické vyšetření nesterilních výrobků: Mikrobiální početní zkouška":

Inkubační podmínky: (30-35 °C / <=3 dny: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* / <=5 dní: *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*).

Podmínky inokulace: (<= 100 CFU).

Podle Evropského lékopisu, USP, USP, 2.6.1 "Sterilita":

Inkubační podmínky: (20-25 °C / <=3 dny: *Bacillus subtilis* / <=5 dní: *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*)

Inokulační podmínky: (<= 100 CFU).

Podle normy ISO 11133 TSPB:

Inkubační podmínky: (30 ± 1 °C / 48 ± 4 h).

Podmínky očkování: Produktivita kvalitativní (<=100 CFU) / selektivita (10⁴-10⁶ CFU).

Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická
reakce <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Dobrý růst, zákal	
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	Zákal na TSPB. > 10 kolonií na PEMBA nebo MYP	Tyrkysové modré kolonie se srážecím halo na PEMBA. Růžové kolonie se srážecím halo na MYP.
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Dobrý růst, zákal	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Úplná inhibice na TSPB, úplná inhibice na TSA	
inhibice <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Dobrý růst, zákal	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Dobrý růst, zákal	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Dobrý růst, zákal	

Skladování

Teplota Min.: 2 °C
Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

Harmonizovaný Evropský lékopis

Gibbons a McDonald. J. Bacteriol., 80:164. 1960. Havens a Benham. A. Med. Tech., 23:305. 1957.

Muey a Edward. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., 97:550. 1958. Steward a Kelly. J. Bacteriol., 77:101. 1959.

MacFaddin, J.D. 1985. Média pro izolaci-kultivaci-identifikaci-udržování lékařských bakterií, s. 797. 1. díl. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

ISO 21871:2006. Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení nízkého počtu presumptivních bakterií *Bacillus cereus* - Technika nejpravděpodobnějšího počtu a metoda detekce.

ISO 10273:2017. Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda detekce patogenní *Yersinia enterocolitica*.

ISO 11133:2014. Mikrobiologie potravin, krmiv a vody - Příprava, výroba, skladování a zkoušení kultivačních médií.