

# TSA + LECITIN & TWEEN 80

## INSTRUKCJA UŻYCIA

Produkt do użytku profesjonalnego.

**Przeznaczenie:** TSA + Lecitin & Tween 80 jest używany do izolacji mikroorganizmów z powierzchni dezynfekowanych czwartorzędowymi związkami amonu.

Nr kat.:	Rodzaj podłoża:	Opakowanie:
167	podłoże sypkie	500 g
3098	podłoże w butelce	100, 200, 500 ml
7010	podłoże na płytce	1x10 szt. (65 mm)
1013	podłoże na płytce	1x10 szt. (90 mm)
4009	podłoże na płytce	1x10 szt. (120 mm)

**1. Właściwości** enzymatyczny hydrolizat kazeinowy oraz enzymatyczny hydrolizat mączki sojowej są źródłem azotu, witamin i węgla w podłożu TSA + Lecitin & Tween 80. Chlorek sodu utrzymuje odpowiednie ciśnienie osmotyczne w podłożu. Lecytyna i Tween 80 są dodawane do podłoża, żeby zneutralizować środki dezynfekcyjne stosowane do powierzchni. Lecytyna jest dodawana do neutralizowania czwartorzędowych związków amonu. Tween 80 neutralizuje fenole, heksachlorofen, formalinę i razem z lecytyną etanol. Agar jest czynnikiem zestalającym.

### 2. Skład w g/l wody destylowanej:

Enzymatyczny hydrolizat kazeinowy	15,0 g
Enzymatyczny hydrolizat mączki sojowej	5,0 g
Chlorek sodu	5,0 g
Lecytyna	0,7 g
Tween 80	5,0 g
Agar	20,5 g

**3. pH:**  $7,3 \pm 0,1$  w temperaturze 25°C.

### 4. Przygotowanie podłoża:

#### Podłoże sypkie:

Rozpuścić 51,2 g suchego podłoża w 1 litrze wody destylowanej. Mieszać podgrzewając do całkowitego rozpuszczenia. Wyjaławiać w autoklawie w temp. 121°C przez 15 min. Po wystudzeniu podłoża do temp. 45-50°C Dobrze wymieszać. Następnie rozlać aseptycznie na płytki Petriego\*.

#### Butelki z agarem:

Podłoże w butelkach powinno być rozpuszczone w łaźni wodnej w temp 80°C lub mikrofalówce.

#### Rozpuszczanie agaru w mikrofalówce

1. Poluzować nakrętkę na butelce przed umieszczeniem jej w mikrofalówce.
2. Umieścić butelkę z agarem w centralnym miejscu mikrofalówki.
3. Podgrzewać agar w odstępach jednonminutowych na małej mocy do momentu całkowitego rozpuszczenia.
4. Między przerwami, delikatnie obracać butelkę, aby upewnić się, że agar upłynnia się równomiernie.
5. W między czasie nałożyć rękawice ochronne, ostrożnie wyjąć gorącą butelkę i pozostawić przed rozlaniem do ostygnięcia do temp. 45-50 °C.
6. Po schłodzeniu podłoża rozlać na płytki.\*

#### Rozpuszczanie agaru w łaźni wodnej

1. Poluzować nakrętkę na butelce przed umieszczeniem jej w łaźni wodnej.
2. Temperatura wody powinna pozostać na poziomie około 80°C.
3. Pozostawić w łaźni wodnej do całkowitego rozpuszczenia.
4. Między przerwami, delikatnie obracać butelkę, aby upewnić się, że agar upłynnia się równomiernie.
5. W między czasie nałożyć rękawice ochronne, ostrożnie wyjąć gorącą butelkę i pozostawić przed rozlaniem do ostygnięcia do temp. 45-50 °C.
6. Po schłodzeniu podłoża rozlać na płytki.\*

\*Pracować w czystym, wolnym od zanieczyszczeń obszarze. Stosować środki dezynfekcyjne. Pracować zgodnie z zasadami aseptyki. W tym samym czasie rozlewać tylko jedną płytkę. Uchylić delikatnie wieczko i wlać 15-20 ml płynnego podłoża na denko płytki. (podłoże powinno zakryć 2/3 powierzchni płytki). Delikatnie obracać płytkę do momentu, aż podłoże pokryje całą jej powierzchnię. Zakryć płytkę wieczkiem. Grubość warstwy powinna mieć 3-4mm głębokości. Przed użyciem płytkę należy ostudzić i poczekać do całkowitego zestalenia agaru. Trwa to około 1 godziny. Można przyspieszyć proces poprzez umieszczenie płytki w lodówce, ale nie w zamrażarce. W celu uniknięcia nagromadzenia się wody kondensacyjnej na wieczku, przed wykonaniem posiewu należy płytkę z agarem umieścić w komorze laminarnej lub cieplarni (temp. 37°C) uchylając delikatnie wieczko na około 20 minut.

## 5. Wygląd:

**Wygląd podłoża sypkiego:** homogenne, jasnobezwowe

**Wygląd podłoża po rozpuszczeniu:** klarowne, słomkowe.

**6. Materiał do badań:** wszystkie próbki, pobrane z powierzchni dezynfekowanych czwartorzędowymi związkami amonu.

**7. Sposób wykonania:** *Metoda płytek odciskowych:* jeżeli podłoże było przechowywane w warunkach chłodniczych, należy je doprowadzić przed użyciem do temp. pokojowej. Przytrzymać płytkę odciskową kciukiem i używając jako drugiego palca wskazującego mocno docisnąć agar do wybranej powierzchni. Taki sam nacisk należy zastosować dla każdej próbki. Nie przesuwając płytek na boki w trakcie badania, ponieważ kontaminacja może rozprzestrzenić się na całej powierzchni agaru utrudniając tym samym odczyt wyniku. Przesuwanie płytki w trakcie badania można zastosować dla lekko zakrzywionych powierzchni. Inkubować posiane płytki w warunkach tlenowych, w temp.  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  przez 72 godz. Używając odpowiedniego oświetlenia i powiększenia policzyć kolonie w kwadratach obszaru siatki ( $25 \text{ cm}^2$ ). Uważać, aby nie policzyć tego samego kwadratu dwukrotnie. *Metoda jakościowa posiewu na płytce:* jeżeli podłoże było przechowywane w warunkach chłodniczych, należy je doprowadzić przed użyciem do temp. pokojowej. Rozprowadzić próbkę na powierzchni agaru. Jeżeli próbka jest przechowywana na wymazówce delikatnie obracać końcówkę wymazówki na niewielkim obszarze agaru tuż przy brzegach płytki, następnie wykonać posiew redukcyjny przy użyciu ezy kalibrowanej. Inkubować posiane płytki w warunkach tlenowych, w temp.  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  przez 72 godz. *Metoda ilościowa posiewu na płytce:* przygotować seryjne rozcieńczenia w jałowym rozcieńczalniku do uzyskania 80-120 jtk na płytkę. Posiać 0,1 ml dobrze wymieszanej próbki posiać na powierzchni agaru. Używając jałowej głaszczki rozprowadzić zawiesinę na całej powierzchni agaru. Inkubować posiane płytki w warunkach tlenowych, w temp.  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  przez 72 godz.

**8. Odczyt i interpretacja wyników:** po okresie inkubacji obserwować wzrost mikroorganizmów lub policzyć kolonie w badanych obszarach siatki.

**9. Kontrola jakości:** podłoże należy kontrolować z użyciem szczepów wzorcowych. Badanie należy wykonać na reprezentatywnej próbce używając czystą hodowlę mikroorganizmów dających pożądane reakcje. Do przeprowadzenia kontroli jakości Graso używa następujących szczepów wzorcowych. Dopuszcza się stosowanie innych szczepów, zgodnie z procedurami i instrukcjami obowiązującymi w laboratorium Kontroli Jakości.

Mikroorganizm:	Wzrost:	Wygląd kolonii:
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	dobry wzrost (2)	kolonie średnie, całobrzegie
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	dobry wzrost (2)	kolonie średnie, wypukłe, okrągłe, całobrzegie, białe do żółtych
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	dobry wzrost (2)	kolonie średnie, okrągłe, opalizujące
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	dobry wzrost (2)	małe, przejrzyste, świecące

**10. Uwagi:** niektóre szczepy mogą słabo rosnąć, lub mogą nie wykazywać wzrostu na tym podłożu.

**11. Postępowanie ze zużytymi podłożami:** hodowle należy zniszczyć przez sterylizację w autoklawie lub postępować zgodnie z obowiązującymi procedurami w zależności od typu laboratorium. Płytki muszą być zutylizowane poprzez autoklawowanie w temp.  $121^\circ\text{C}$  przez 20 minut.

**12. Przechowywanie:** Podłoża suche należy przechowywać w temp.  $2-30^\circ\text{C}$  w chłodnym, suchym miejscu w szczelnie zamkniętym opakowaniu. Podłoże w butelkach przechowywać w temp.  $6-25^\circ\text{C}$  Gotowe płytki z podłożem należy przechowywać w temp.  $2-12^\circ\text{C}$  do upływu terminu ważności z dala od bezpośredniego źródła światła w pozycji odwróconej. Aby uniknąć zamrożenia agaru nie należy trzymać płytek blisko ścian lodówki. Aby uniknąć pojawienia się większej ilości wody na wieczku płytki nie należy otwierać zbyt często lodówki. Nie przechowywać podłoży w przepelnionej lodówce. Przed wykonaniem posiewu doprowadzić płytki do temp. pokojowej. Podłoża zawierające barwniki powinny być chronione przed bezpośrednim źródłem światła. Gotowe płytki z podłożem przechowywać w oryginalnym opakowaniu, do czasu upływu daty ważności. Zachować zalecany czas inkubacji podany przez producenta. Nie należy używać płytek, jeżeli wykazują oznaki zanieczyszczenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wysuszenia, pęknięcia lub innej oznaki uszkodzenia.

- 13. Termin ważności:** podłoże sypkie: 3 lata,  
butelki: 1 rok,  
płytki: 3 miesiące.
- 14. Dodatkowe suplementy niedostarczone do podłoża bazowego:** nie wymagane.
- 15. Piśmiennictwo:** dostępne na życzenie klienta.



Graso Zenon Sobiecki  
Krań 4A; 83-200 Starogard Gdański  
[www.grasobiotech.pl](http://www.grasobiotech.pl)  
tel. + 48 (58) 562 30 21



Production Department  
Leśna 1, Owidz  
83-211 Jabłowo