



BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood

VERWENDUNGSZWECK

BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood ist ein nährstoffreiches Mehrzweckmedium zur Isolierung und Kultivierung von anspruchsvollen und nicht anspruchsvollen Mikroorganismen aus klinischen Proben sowie für den Hämolyseachweis.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Trypticase Soja-Agar (TSA) ist aufgrund seiner Nährstoffzusammensetzung ein häufig verwendetes Medium, sowohl ohne Zusatz als auch als Basis für Medien, die Blut enthalten.¹

BD Trypticase Soy Agar II ist eine verbesserte Version des ursprünglichen Produkts und liefert mit dem Zusatz von 5 % Schafblut besser abgrenzbare Hämolysezonen als **Trypticase** Soja-Agar (TSA). Es ermöglicht ausgezeichnetes Wachstum und Beta-Hämolyse von hämolytischen Streptokokken und anderen Organismen.²⁻⁴ Es eignet sich zur Durchführung des CAMP-Tests (Bildung einer Zone kompletter, synergistischer Hämolyse an der Kreuzung von rechtwinklig ausgestrichenen Inokula von *Staphylococcus aureus* und Streptokokken der Gruppe B) zur präsumtiven Identifizierung von *Streptococcus agalactiae*, und zur Verwendung mit Bacitracin-Testblättchen mit niedriger Konzentration (0,04 Einheiten) (**BD Taxo A**-Blättchen) zur präsumtiven Identifizierung von Streptokokken der Gruppe A (*S. pyogenes*).^{2,3,5,6}

BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood eignet sich nicht als Medium zur Erstisolierung von anspruchsvollen Anaerobiern.

Die Kombination von Casein- und Soja-Peptonen in der Trypticase Soja-Agar (TSA II)-Basis macht das Medium äußerst nährstoffreich und liefert organischen Stickstoff, insbesondere Aminosäuren und langkettige Peptide. Natriumchlorid erhält das osmotische Gleichgewicht aufrecht. Herstellereigene Wachstumsfaktoren verbessern die Hämolysereaktionen. Defibriniertes Schafblut ist das meist verwendete Blut zur Anreicherung von Agar-Basismedien.¹

REAGENZIEN

BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	14,5 g
Papainisch abgebautes Sojamehl	5,0
Natriumchlorid	5,0
Wachstumsfaktoren	1,5
Agar	14,0
Defibriniertes Schafblut	5 %

pH 7,3 ± 0,2

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch. ⓧ

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Inokulierte Platten bei 35 ± 2 °C in einer mit Kohlendioxid angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren. Platten nach 18 bis 24 h auf Wachstum, Koloniegröße und Hämolysereaktionen überprüfen.

Stämme	Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; möglicherweise beta-hämolytisch.
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; Beta-Hämolyse
<i>Streptococcus agalactiae</i> , ATCC 12386	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; (schwache) Beta-Hämolyse
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum, grün-graue Kolonien; Alpha-Hämolyse
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; Beta-Hämolyse
Nicht inokuliert	Rot (blutfarben)

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (90 mm **Stacker**-Platten).

Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Dies ist ein Universalisierungsmedium in der aeroben Bakteriologie, das für alle klinischen Probenarten verwendet werden kann (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

Testverfahren

Probe möglichst bald nach Eingang im Labor ausstreichen. Diese Platte wird hauptsächlich zur Isolierung von Reinkulturen aus Proben mit einer gemischten Flora verwendet.

Falls das Material direkt von einem Tupfer kultiviert wird, Tupfer über einen kleinen Bereich am Rand der Oberfläche rollen; anschließend aus diesem inokulierten Bereich ausstreichen. Um den Nachweis aller in der Probe enthaltenen Pathogene zu verbessern muss die Probe auch auf passenden selektiven Medien ausgestrichen werden.^{1,4}

Da zur Erstisolierung vieler Erreger CO₂ erforderlich ist, sollten die Platten in einer Atmosphäre mit etwa 3 – 10 % CO₂ inkubiert werden. Platten bei 35 – 37 °C 18 – 24 h (oder länger, falls erforderlich) inkubieren.

CAMP-Test: Isolate mit Verdacht auf *Streptococcus agalactiae* können zur präsumtiven Identifizierung einem CAMP-Test unterzogen werden. Das Inokulum kann von einer Blutagar-Platte genommen werden. *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 über dem Zentrum der Platte mit einem einzigen Ausstrich aufbringen. Wenn eine Impfpöse verwendet wird, diese nicht parallel zur Agar-Fläche benutzen, da der Ausstrich sonst zu breit wird und die Ergebnisse

nicht zufriedenstellend ausfallen. Die Streptokokken-Teststämme werden mit einem einzigen Ausstrich senkrecht zur *S. aureus*-Linie inokuliert. Dabei sollten sich die Linien so nah wie möglich kommen (2 – 3 mm), sich aber nicht berühren. Es können mehrere Isolate auf derselben Platte getestet werden. Senkrecht verlaufende Streptokokken-Ausstriche sollten 5 – 8 mm auseinander liegen. Es wird empfohlen, auch *S. agalactiae* ATCC 12386 zusammen mit den Patientenisolaten zu überprüfen, um eine zufriedenstellende Funktion sicherzustellen, sowie *S. pyogenes* ATCC 10615 als negative Kontrolle. Das Verfahren sollte mit bekannten Kulturen erprobt werden, bevor es zur Identifizierung von unbekannten Isolaten angewendet wird.

Hinweis: Studien über den CAMP-Test haben gezeigt, dass die Reaktion zu Beginn der Haltbarkeitsdauer einiger Chargen des vorbereiteten Plattenmediums am zuverlässigsten ist. Für den CAMP-Test die Platten 18 – 24 h in einer aeroben Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubieren. Nicht anaerob oder in einem CO₂-Inkubator inkubieren, da dies zu falsch-positiven Ergebnissen mit Streptokokken der Gruppe A führen kann.^{2,3,5,6}

Ergebnisse

Nach der Inkubation weisen die meisten Platten einen Bereich mit konfluierendem Wachstum auf. Da das Ausstreichen in Wirklichkeit eine „Verdünnungstechnik“ darstellt, wird eine sich verringernde Anzahl von Mikroorganismen auf den ausgestrichenen Bereichen abgelagert. Folglich sollten einer oder mehrere dieser Bereiche isolierte Kolonien der in der Probe enthaltenen Organismen aufweisen. Außerdem kann das Wachstum jedes Organismus auf der Basis des Wachstums in jedem der ausgestrichenen Bereiche semi-quantitativ bestimmt werden. Für die weitere Differenzierung der isolierten Organismen müssen biochemische und/oder serologische Tests durchgeführt werden. Erscheinungsbild und weitere Differenzierungstests der isolierten Organismen sind der entsprechenden Literatur zu entnehmen.^{2,3,7,8}

CAMP Test: Eine positive CAMP-Reaktion wird durch einen pfeilspitzenförmigen oder dreieckigen Bereich erhöhter Hämolyse angezeigt, welche sich um das Ende der Streptokokken-Ausstrichlinie bildet, welche sich am nächsten zum *S. aureus*-Wachstum befindet. Das Streptokokken-Wachstum muss sich innerhalb der breiten Zone teilweiser Hämolyse befinden, welche das *S. aureus*-Wachstum umgibt. Isolate, welche die beschriebene pfeilspitzenförmige Hämolyse aufweisen, können präsumtiv als *Streptococcus agalactiae* identifiziert werden. Sie sollten jedoch in zusätzlichen immunologischen oder serologischen Verfahren als Streptokokken der Lancefield-Gruppe B bestätigt werden. Eine negative Reaktion kann sich als kugelförmige Zone mit leicht

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood ist ein Standardmedium zur Isolierung und Kultivierung einer Vielzahl von aerob wachsenden Mikroorganismen, z.B. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* und weitere nicht-fermentierende gramnegative Stäbchen, Streptokokken, Staphylokokken, coryneforme Bakterien, *Candida*-Spezies, u.v.a.^{1,4}

Das Medium enthält keinen Faktor V (Nikotinamidadenindinukleotid, NAD), da Schafblut NADase enthält, welche das NAD zerstört. Aus diesem Grund weist *Haemophilus influenzae*, das sowohl Faktor X als auch Faktor V benötigt, auf diesem Medium kein Wachstum auf. *Neisseria gonorrhoeae* verzeichnet auf diesem Medium kein gutes Wachstum. Statt dessen ist für die Isolierung dieser Spezies ist **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalEx)** zu verwenden.

Das Medium ist außerdem für die Isolierung und das Wachstum von *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* und anderen Organismen mit hochspezifischen Nährstoffanforderungen nicht geeignet.

Es gibt eine hohe Anzahl und zahlreiche Arten bakterieller Spezies, die Infektionskrankheiten hervorrufen. Bevor das Medium routinemäßig für selten isolierte oder neu beschriebene Organismen verwendet wird, muss seine Eignung daher zunächst durch den Anwender anhand der Kultivierung von Reinkulturen des betreffenden Organismus getestet werden. Obwohl bestimmte diagnostische Tests direkt auf diesem Medium durchgeführt werden können, werden für eine vollständige Identifizierung biochemische und, falls indiziert, immunologische

Tests unter Verwendung von Reinkulturen empfohlen. Weitere Informationen dazu enthält die entsprechende Literatur.⁴⁻⁷

Für detailliert Informationen zur Verwendung von **BD Taxo**-Testblättchen auf diesem Medium sollte die entsprechende **Gebrauchsanweisung** hinzugezogen werden.

BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood ist nicht als Medium zur Erstisolierung von anspruchsvollen Anaerobiern geeignet.

LITERATUR

1. Vera, H.D., and D.A. Power. 1980. Culture media, p. 969. *In*: E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Facklam, R.R., and J.A. Washington II. 1991. Streptococci and related catalase-negative gram-positive cocci, p. 238-257. *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.
3. Ruoff, K.L., R.A. Whaley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*. *In*: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. *In*: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Bernheimer, A.W., R. Linder, and L.S. Avigad. 1979. Nature and mechanism of action of the CAMP protein of group B streptococci. *Infect. Immun.* 23:838-844.
6. Darling, C.L. 1975. Standardization and evaluation of CAMP reaction for prompt, presumptive identification of *Streptococcus agalactiae* (Lancefield group B) in clinical material. *J. Clin. Microbiol.* 1:171-174.
7. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, Clinical microbiology procedures handbook, vol.1, p. 1.6.1-1.6.7. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Baron, E. J, L. R. Peterson, and S. M. Tenover. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed., p. 415. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood

Best.-Nr. 254053	Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten
Best.-Nr. 254087	Gebrauchsfertige Plattenmedien, 120 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



Becton Dickinson GmbH

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

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD