



og

BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II) – Bi-Plate

L007379 • Rev. 12 • Juni 2017

KVALITETSKONTROLPROCEDURER

I INDLEDNING

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA) (Gruppe A selektivt streptokokagar med 5 % fåreblod) er et selektivt medium til brug ved isoleringen og den foreløbige identifikation af gruppe A streptokokker fra svælgpodninger og andre præparater. **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II)** (**BD BBL Trypticase** sojaagar med 5 % fåreblod) bruges til vækst af kræse organismer og til visualisering af hæmolytiske reaktioner. TSA II mediumsektoren er mærket "I" og **ssA** mediumsektoren er mærket "II" i den to-pladede skål.

II FUNKTIONSTESTPROCEDURE

A. BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood

- Inokulér repræsentative prøver med de kulturer, der er fortyndet til at indeholde 10^3 til 10^4 CFU/0,01 mL.
 - Tilsæt 0,01 mL af fortyndingen til hver plade og udstryk for at isolere. Lav et stikmærke i det primære udstrykningsområde, inden resten af pladen udstryges.
 - Anbring en **BD BBL Taxo A** skive ved skæringen mellem det første og andet område af udstrygningen på alle plader, der er inokuleret med *S. pyogenes* stammer.
 - Inkubér pladerne ved 35 ± 2 °C i en aerob atmosfære beriget med kuldioxid.
 - Inkludér **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II)** plader som non-selektive kontroller for alle organismer.
- Undersøg pladerne efter 18 til 24 h for beta-hæmolyse i området med stikmærket og for vækstmængde, hæmning, kolonistørrelse og hæmolytiske reaktioner. Aflæs og notér zonestørrelserne omkring **BD BBL Taxo A** skiven med *S. pyogenes*.
- Forventede resultater

Organismer	ATCC	Isolering
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Rimelig til kraftig vækst (afhængig af stammen og fortyndingen) af knappenålsstørrelse til meget små kolonier omgivet af zoner med beta- hæmolyse.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	51574	En væksthæmningszone er klart tydelig omkring BD BBL Taxo A skiven.
<i>Streptococcus mitis</i>	6249	Delvis hæmning
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Fuldstændig hæmning
<i>Neisseria subflava</i>	14799	Fuldstændig hæmning
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Fuldstændig hæmning

*Anbefalet organismestamme til brugerkvalitetskontrol.

B. BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood

- Inokulér repræsentative prøver med fortyndinger af de kulturer, der er anført herunder.
 - Tilfør med en volumetrisk pipettor eller tilsvarende metode 0,01 mL af en fortynding, hvilket giver 30 til 300 CFU til hver plade, og inokulér ved hjælp af spredning med en steril glasspredner.
 - Inkubér *Staphylococcus* stammen ved 35 ± 2 °C i en aerob atmosfære og *Streptococcus* stammerne ved 35 ± 2 °C i en aerob atmosfære beriget med kuldioxid.
- Undersøg pladerne efter 18 til 24 h for vækst, kolonistørrelse og hæmolytiske reaktioner.
- Forventede resultater

CLSI-kontrolorganismer	ATCC	Isolering
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Vækst, beta-hæmolyse
* <i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Vækst, alfa-hæmolyse
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Vækst
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Vækst

*Anbefalet organismestamme til brugerkvalitetskontrol.

III YDERLIGERE KVALITETSKONTROL

- Undersøg pladerne som beskrevet under "Produktforringelse."
- Undersøg visuelt repræsentative plader for at sikre, at eventuelle eksisterende fysiske defekter ikke vil påvirke anvendelsen.
- Bestem pH potentiometrisk ved stuetemperatur for at overholde specifikationen på $7,4 \pm 0,2$ for begge medier.
- Bemærk pladernes fasthed under inokuleringsproceduren.
- Inkubér ikke-inokulerede repræsentative plader ved 35 ± 2 °C i 72 h, og undersøg dem for mikrobiel kontaminering.

PRODUKTINFORMATION

IV TILSIGTET BRUG

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA) anbefales som et primært, selektivt plademedium til primær isolering af gruppe A streptokokker (*S. pyogenes*) fra svælgpodninger og andre præparater, hvor der forventes tilstedeværelse af *S. pyogenes*. Gruppe B streptokokker vil også vokse på dette medium; de fleste andre streptokokker, neisseriae, staphylokokker og gramnegative bakterier er hæmmet. Mediet er designet til brug sammen med **BD BBL Taxo A** (bacitracin, 0,04 enheder) skiver til foreløbig identifikation af *S. pyogenes*.

BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II) bruges til dyrkning af kræsne organismer og til visualisering af hæmolytiske reaktioner, som frembringes af mange bakteriearter.

V RESUMÉ OG FORKLARING

Infektion med Lancefield gruppe A streptokokker (*S. pyogenes*) kan give alvorlige sequelae som fx giftfeber og akut glomerulonephritis. Derfor er tidlig påvisning og identifikation vigtigt.

Den ernæringsmæssige sammensætning af **BD BBL Trypticase** sojaagar har gjort det til et populært medium, både usuppleret og som en base for medier indeholdende blod. **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II)** bruges i stor udstrækning til isolering og dyrkning af kræsne mikrobearter og til bestemmelse af hæmolytiske reaktioner, som er vigtige differentieringskarakteristika for bakterier, især *Streptococcus* arter.

På grund af overvæksten af normal flora, som er til stede i svælgdykningsprøver på rutinemæssige blodagarplader er der tilsat selektive ingredienser til fåreblodagar for at forbedre påvisningen af gruppe A streptokokker.

Evalueret af forskellige antimikrobielle stoffer i vores laboratorier resulterede i en kombination med forbedret selektivitet frem for andre testede, selektive medier. Dette medium (**ssA**) muliggør foreløbig identifikation af gruppe A streptokokker, baseret på bacitracin-følsomhed og beta-hæmolyse, inden for 24 h efter inokulering med præparatet, når mediet inkuberes i en CO₂-beriget atmosfære.¹

Den opdeltede plade, der indeholder den non-selektive blodagar (TSA II) i sektoren mærket "I" og den selektive blodagar (**ssA**) i sektoren mærket "II," tillader isolering af gruppe A streptokokker og evaluering af den samlede mikrobiota for præparatet med én skål.

VI PROCEDURENS PRINCIPPER

Kombinationen af kasein og sojapeptoner i **BD BBL Trypticase** sojaagarbasen gør mediet særdeles nærende ved at give organisk nitrogen. Natriumkloriden opretholder osmotisk ligevægt.

Defibrineret fåreblod giver streptokokkernes korrekte hæmolytiske reaktioner. Desuden hæmmes vækst af *Haemophilus haemolyticus*, et non-patogen, hvis hæmolytiske kolonier ikke kan skelnes fra kolonier af beta-hæmolytiske streptokokker.

BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II) giver udmærket vækst og beta-hæmolyse ved *Streptococcus pyogenes* (Lancefield gruppe A) og giver også udmærket vækst og passende hæmolytiske reaktioner med andre kræsne organismer. Det er egnet til brug med lavkoncentrations (0,04 enheder) bacitracin skiver (**BD BBL Taxo A**) til foreløbig identifikation af gruppe A streptokokker (*S. pyogenes*).

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA) indbefatter en enestående kombination af selektive ingredienser i **BD BBL Trypticase Soy Sheep Blood Agar (TSA II)** til at undertrykke normal svælgflora med henblik på forbedret isolering af *S. pyogenes*. Defibrineret fåreblod leverer berigelse til væksten af sådanne kræsne organismer og tillader påvisning af den typiske beta-hæmolyse af *S. pyogenes*. Beta-hæmolytiske streptokokker, som viser en hæmningszone omkring en bacitracin-skive (0,04 enhed) kan give en foreløbig identifikation som gruppe A streptokokker.

VII REAGENSER

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA)		BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II)	
Omtrentlig formel* pr. liter rensat vand		Omtrentlig formel* pr. liter rensat vand	
Pankreatisk fordøjelse af kasein	14,5 g	Pankreatisk fordøjelse af kasein	14,5 g
Papain-fordøjelse af sojabønnealtid	5,0 g	Papain-fordøjelse af sojabønnealtid	5,0 g
Natriumklorid	5,0 g	Natriumklorid	5,0 g
Agar	14,0 g	Agar	14,0 g
Vækstfaktorer	1,5 g	Vækstfaktorer	1,5 g
Selektive stoffer	40,2 mg	Defibrineret fåreblod	5 %
Fåreblod, defibrineret	5 %		

*Justeret og/eller suppleret som påkrævet for at leve op til funktionskriterier.

Advarsler og forholdsregler

Til *in vitro* diagnostik.

Hvis der ses for kraftig fugtighed, inverteres bunden over et forskudt låg, hvilket giver mulighed for lufttørring for at forhindre dannelse af en forsegling mellem toppen og bunden af pladen under inkubation.

Patogene mikroorganismer, inklusive hepatitisvira og humant immundefekt virus, kan forekomme i kliniske prøver.

"Standardforholdsregler"²⁻⁵ og institutionelle retningslinier skal overholdes ved håndtering af alle emner, der er kontamineret med blod og andre kropsvæsker. Efter brug skal præparerede plader, prøvebeholdere og andre kontaminerede materialer steriliseres ved autoklavering, inden de kasseres.

Opbevaringsinstruktioner

Opbevares efter modtagelse i mørke ved 2–8 °C. Undgå nedfrysning eller overopvarmning. Må ikke åbnes, før de skal bruges. Minimér eksponering for lys. Klargjorte plader, der opbevares i deres originale emballage ved 2–8 °C indtil lige før brug, kan inokuleres indtil udløbsdatoen og inkuberes i de anbefalede inkubationstider. Lad mediet opnå stuetemperatur inden inokulering.

Produktforringelse

Pladerne må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring eller andre tegn på forringelse.

VIII PRØVEINDSAMLING OG -HÅNDTERING

Svælgræparater, der er egnet til dyrkning, kan tages ved at pøde pharynx- og tonsillærområdet i svælget med en podepind med polyester- eller polyurethan-spids, idet det undgås at berøre tunge eller uvula. (Bemærk: Hvis podninger også bruges med direkte antigenpåvisningstests, er brug af polyester-, rayon- eller polyurethanpodepinde på plasticskift påkrævet; fx **BD BBL CultureSwab** og **BD BBL CultureSwab** EZ opsamlings- og transportsystemer.) Andre kilder end svælget bør dyrkes i henhold til anbefalede procedurer. Læs relevante tekster for at få detaljerede oplysninger.^{6,7}

IX PROCEDURE

Materiale vedlagt

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (**ssA**) og **BD BBL Trypticase** Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II) – Bi-Plate.

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpedyrkningsmedier, reagenser, kvalitetskontrolorganismer og laboratorieudstyr som påkrævet.

Testprocedure

Agaroverfladen skal være glat og fugtig, men uden overdreven fugt.

Udstryg prøven så hurtigt som muligt efter modtagelse i laboratoriet. Udstrykningspladen anvendes primært til at isolere rene kulturer fra prøver, der indeholder blandet flora. Alternativt, hvis materialet dyrkes direkte fra en podepind, kan podepinden rulles over et lille område på overfladen ved kanten. Derefter stryges ud fra dette inokulerede område. Uden at resterilisere løkken laves et knivmærke i agaren to eller tre gange i det område med kraftigst inokulering.

Når denne plade bruges med det samme præparat, inokuleres TSA II siden mærket "I" først. Dernæst inokuleres **ssA** siden mærket "II", og der anbringes en **BD BBL Taxo** A skive på den podede del af den side; dvs. hvor det podede område er skåret igennem af området med initial løkkeudstrykning.

Inkubér de inokulerede plader ved 35 ± 2 °C i en atmosfære beriget med kuldioxid. Hvis pladerne inkuberes uden kuldioxid, vil de beta-hæmolytiske zoner og kolonistørrelser være mindre, og færre kolonier er måske synlige.

Undersøg pladerne efter 18 til 24 h.

Bruger kvalitetskontrol

Krav til kvalitetskontrol skal udføres i overensstemmelse med gældende lokale og/eller nationale regulativer eller akkrediteringskrav samt laboratoriets standardkvalitetskontrolprocedurer. Det anbefales at læse de relevante CLSI-retningslinjer og CLIA-regulativer mht. passende kvalitetskontrolprocedurer.

X RESULTATER

Efter 18 til 24 h inkubation i en atmosfære beriget med kuldioxid vil gruppe A streptokokker (*S. pyogenes*) på **ssA** se ud som delvis gennemsigtige eller uigennemsigtige hvide til grå, små (1 til 2 mm) kolonier omgivet af en zone med beta-hæmolyse. En aftagning i størrelse sammenlignet med den non-selektive kontrol, **BD BBL Trypticase** Soy Agar with 5 % Sheep Blood, et typisk. Knapphedsstørrelse eller meget små kolonier af alpha-, non-hæmolytiske eller andre beta-hæmolytiske streptokokker kan vokse i små antal, men de bør ikke interferere med isoleringen af gruppe A streptokokker eller tolkning af resultaterne. *Neisseria* arter, viridansstreptokokker, staphylokokker, gramnegative stave og de fleste beta-hæmolytiske streptokokker ud over gruppe A og B hæmmes på **ssA** mediet. Bacitracin-følsomhed kan bruges til at differentiere gruppe A streptokokker fra gruppe B. Rimelig til kraftig vækst af beta-hæmolytiske kolonier, der udviser en hæmningszone omkring **BD BBL Taxo** A skiven, kan rapporteres foreløbigt som *S. pyogenes*. En PYR (pyroglutaminsyre) test kan også udføres. Den er mere specifik og lige så følsom som bacitracin-testen til dette formål.⁷ Gramfarvninger bør også foretages og undersøges.

Der kan udføres en testprocedure af serologisk gruppering, hvis der findes tilstrækkelige velisolerede beta-hæmolytiske kolonier.

XI PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Eftersom der ikke findes et perfekt medium, kan man møde nogle stammer af gruppe A streptokokker (*S. pyogenes*), som vil vokse dårligt på **ssA** mediet; præparaternes beskaffenhed og organismernes fysiologiske tilstand kan få indflydelse på isolering af de ønskede arter, såvel som modificere virkningerne af mediets hæmmende egenskaber. Det er derfor nyttigt at sammenligne væksten på begge sider af den todelte plade for at få yderligere oplysninger og for at sikre optimal isolering af potentielle patogener.

Dette præparerede medium er beregnet til primær isolering. Der kan udføres nogle diagnostiske tests med den primære plade. Der anbefales imidlertid en ren kultur til biokemiske tests og serologiske procedurer. Læs de relevante tekster for detaljerede oplysninger og anbefalede procedurer.⁶⁻⁸

XII FUNKTIONSDATA

I en klinisk evaluering bestående af 460 svælgpodninger var der i alt 117 positive for gruppe A streptokokker på **BD BBL** Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (**ssA**) sammenlignet med 100 på SXT Sheep Blood Agar og 84 på **BD BBL Trypticase** Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II). Af disse positive kulturer blev 103 identificeret baseret på beta-hæmolyse og bacitracin-følsomhed (0,04 enheder) inden for 24 h med **ssA** sammenlignet med 80 på SXT og kun 32 på den non-selektive TSA blodagarkontrol.⁹

XIII BESTILLING

Kat. nr.	Beskrivelse
221783	BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA) // BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II), Pakke med 20, to-pladede skåle

XIV LITTERATUR

1. Evans, G.L., and T.E. O'Neill. 1984. Development of an improved selective medium for the isolation of group A streptococci from throat cultures, abstr. C-136, p. 259. Abstr. 84th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1984.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
7. Ruoff, K.L., R.A. Whaley, and D. Beighton. 1999. Streptococcus, p. 283–296. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 5th ed. J.B. Lippincott Co., Philadelphia.
9. Carlson, J.R., W.G. Merz, B.E. Hansen, S. Ruth, and D.G. Moore. 1985. Improved recovery of group A beta-hemolytic streptococci with a new selective medium. J. Clin. Microbiol. 21:307–309.

Teknisk service og support: skal De kontakte den lokale BD repræsentant eller besøg www.bd.com.



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.

© 2017 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.