



und

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

L007379 • Rev. 12 • Juni 2017

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA) (Selektiver Strep-Agar der Gruppe A mit 5 % Schafblut (ssA)) ist ein Selektivmedium zur Verwendung bei der Isolierung und dem präsumtiven Nachweis von Streptokokken der Gruppe A aus Rachenkulturen und anderen Proben. **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II)** (**BD BBL Trypticase**-Sojaagar mit 5 % Schafblut (TSA II)) wird zur Kultivierung hochselektiver Organismen und zur Sichtbarmachung von Hämolyseaktionen verwendet. Der TSA II-Mediumbereich ist in der Schale mit zweigeteilter Platte (Bi-Platte) mit „I“ gekennzeichnet; der **ssA**-Mediumbereich ist mit „II“ gekennzeichnet.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

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

- Repräsentative Proben mit den auf 10^3 bis 10^4 KBE/0,01 mL verdünnten Kulturen inokulieren.
 - Jeder Platte 0,01 mL der Verdünnung hinzugeben und zur Isolierung ausstreichen. Im primären Ausstrichbereich einen Einstich vornehmen, bevor der Rest der Platte bestrichen wird.
 - Ein **BD BBL Taxo A**-Blättchen am Schnittpunkt des ersten und des zweiten Ausstrichbereichs auf alle Platten platzieren, die mit *S. pyogenes*-Stämmen inokuliert wurden.
 - Platten bei 35 ± 2 °C in einer mit Kohlendioxid angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren.
 - Für alle Organismen **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II)** als nichtselektive Kontrollen mittesten.
- Die Platten nach 18 bis 24 h im Einstichbereich auf beta-Hämolyse untersuchen sowie auf die Wachstumsmenge, die Hemmung, die Koloniegröße und Hämolysereaktionen. Die Größe der Zone um das **BD BBL Taxo A**-Blättchen mit *S. pyogenes* ablesen und dokumentieren.
- Zu erwartende Ergebnisse

Organismen	ATCC	Isolierung
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Mäßiges bis starkes Wachstum (je nach Stamm und Verdünnung) von punktförmigen bis sehr kleinen Kolonien, die von Zonen mit beta-Hämolyse umgeben sind. Eine wachstumsgehemmte Zone ist deutlich um das BD BBL Taxo A -Blättchen herum zu erkennen.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	51574	
<i>Streptococcus mitis</i>	6249	Partielle Hemmung
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Vollständige Hemmung
<i>Neisseria subflava</i>	14799	Vollständige Hemmung
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Vollständige Hemmung

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für Qualitätssicherung durch den Anwender.

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

- Repräsentative Proben mit Verdünnungen der nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - Mit einer volumetrischen Pipette oder einer vergleichbaren Methode 0,01 mL einer Verdünnung, die 30 bis 300 KBE ergibt, auf jede Platte geben und zur Inokulation mit einem sterilen Glasverteiler ausstreichen.
 - Den *Staphylococcus*-Stamm in einer aeroben Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubieren und die *Streptococcus*-Stämme in einer aeroben, mit Kohlendioxid angereicherten Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubieren.
- Platten nach 18 bis 24 h auf Wachstum, Koloniegröße und Hämolysereaktionen überprüfen.
- Zu erwartende Ergebnisse

CLSI-Kontrollorganismen	ATCC	Isolierung
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Wachstum, Beta-Hämolyse
* <i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Wachstum, Alpha-Hämolyse
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Wachstum
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Wachstum

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

- Die Agarplatten, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben, begutachten.
- Die repräsentativen Platten auf sichtbare Beschädigungen prüfen, durch die ihre Verwendung beeinträchtigt werden könnte.
- Den pH-Wert mit dem Potentiometer bei Raumtemperatur darauf überprüfen, ob ein Bereich von $7,4 \pm 0,2$ für beide Medien eingehalten wird.
- Die Festigkeit der Agarplatten während der Inokulation beachten.
- Unbeimpfte repräsentative Platten 72 h bei 35 ± 2 °C inkubieren und auf mikrobielle Kontamination untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA) wird empfohlen als primäres selektives Agarmedium zur primären Isolierung von Streptokokken der Gruppe A (*S. pyogenes*) aus Rachenkulturen und anderen Proben, bei denen das Vorhandensein von *S. pyogenes* vermutet wird. Streptokokken der Gruppe B wachsen ebenfalls auf diesem Medium; die meisten anderen Streptokokken, neisseriae, staphylococci und gramnegative Bakterien sind gehemmt. Dieses Medium wurde für die Verwendung zusammen mit **BD BBL Taxo A** (Bacitracin, 0,04 Einheit)-Blättchen für den präsumtiven Nachweis von *S. pyogenes* entwickelt.

BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II) wird zur Kultivierung hochselektiver Mikroorganismen und zur Visualisierung hämolytischer Reaktionen verwendet, die von vielen Bakterienspezies gezeigt werden.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Eine Infektion mit Lancefield-Streptokokken der Gruppe A (*S. pyogenes*) kann zu schweren Spätfolgen, wie beispielsweise rheumatisches Fieber und akuter Glomerulonephritis, führen. Aus diesem Grund sind Früherkennung und ein früher Nachweis wichtig.

BD BBL Trypticase-Soja-Agar ist aufgrund seiner Nährstoffzusammensetzung ein häufig verwendetes Medium, sowohl ohne Zusatz als auch als Basis für Medien, die Blut enthalten. **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II)** wird häufig zur Gewinnung und Kultivierung hochselektiver Antibiotika sowie zum Nachweis hämolytischer Reaktionen verwendet, die ein wichtige Differenzierungsmerkmal für Bakterien, besonders für *Streptococcus*-Spezies darstellen.

Aufgrund des Überwachsens der normalen Flora, die in den auf herkömmliche Blutagarplatten kultivierten Rachenkulturproben vorkommt, wurden dem Schafblutagar ausgewählte Bestandteile hinzugefügt, um den Nachweis der Streptokokken der Gruppe A zu vereinfachen.

Die Auswertung der verschiedenen Antibiotika in unseren Labors ergab eine Kombination mit verbesserter Selektivität gegenüber anderen getesteten Selektivmedien. Dieses Medium (**ssA**) ermöglicht den präsumtiven Nachweis von Streptokokken der Gruppe A, basierend auf der Bacitracin-Empfindlichkeit und der beta-Hämolyse, innerhalb von 24 h nach der Inokulation mit der Probe, wenn das Medium in einer mit CO₂ angereicherten Atmosphäre inkubiert wird.¹

Die zweigeteilte Platte (Bi-Platte) mit dem nichtselektiven Blutagar (TSA II) in dem mit „I“ gekennzeichneten Bereich und dem selektiven Blutagar (**ssA**) in dem mit „II“ gekennzeichneten Bereich ermöglicht die Isolierung von Streptokokken der Gruppe A sowie die Auswertung der gesamten Probenmikrobiota auf einer Schale.

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Durch die Verbindung aus Casein und Soyapeptonen in der **BD BBL Trypticase-Sojaagarbasis** erhält das Medium einen hohen Nährgehalt, da es organischen Stickstoff liefert. Durch das Natriumchlorid wird das osmotische Gleichgewicht gewahrt.

Defibriniertes Schafblut liefert die korrekten Hämolysereaktionen bei Streptokokken. Darüber hinaus wird das Wachstum von *Haemophilus haemolyticus*, einem Nichtpathogen, dessen Hämolysekolonien sich nicht von denen von beta-Hämolyse-Streptokokken unterscheiden lassen, gehemmt.

BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II) liefert ein hervorragendes Wachstum und eine beta-Hämolyse durch *Streptococcus pyogenes* (Lancefield-Gruppe A); darüber hinaus liefert es hervorragendes Wachstum und entsprechende Hämolysereaktionen mit anderen hochselektiven Organismen. Es ist geeignet zur Verwendung mit Bacitracin-Blättchen (**BD BBL Taxo A**) von niedriger Konzentration (0,04 Einheit) zur präsumtiven Identifizierung von Streptokokken der Gruppe A (*S. pyogenes*).

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA) enthält eine einzigartige Kombination selektiver Bestandteile in **BD BBL Trypticase Soy Sheep Blood Agar (TSA II)** zur Unterdrückung der normalen Rachenflora, um somit eine bessere Isolierung von *S. pyogenes* zu erreichen. Defibriniertes Schafblut liefert die Anreicherung für das Wachstum derartiger hochselektiver Organismen und ermöglicht den Nachweis der typischen beta-Hämolyse von *S. pyogenes*. Beta-Hämolyse-Streptokokken zeigen eine wachstumsgehemmte Zone um ein Bacitracin (0,04 Einheit)-Blättchen und können präsumtiv als Streptokokken der Gruppe A identifiziert werden.

VII REAGENZIEN

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA)		BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II)	
Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser		Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser	
Pankreatisch abgebautes Casein.....	14,5 g	Pankreatisch abgebautes Casein.....	14,5 g
Papainisch abgebautes Sojamehl.....	5,0 g	Papainisch abgebautes Sojamehl.....	5,0 g
Natriumchlorid.....	5,0 g	Natriumchlorid.....	5,0 g
Agar.....	14,0 g	Agar.....	14,0 g
Wachstumsfaktoren.....	1,5 g	Wachstumsfaktoren.....	1,5 g
Selektive Wirkstoffe.....	40,2 mg	Defibriniertes Schafsblut.....	5 %
Defibriniertes Schafblut.....	5 %		

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Wenn übermäßige Feuchtigkeit vorhanden ist, das Unterteil umdrehen, versetzt auf den Deckel legen und in der Luft trocknen lassen, um zu verhindern, dass während der Inkubation eine Abdichtung zwischen dem Deckel und dem Unterteil entsteht.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“²⁻⁵ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Gebrauchsfertige Agarplatten, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach der Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Platten nach Erhalt bei 2–8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nicht einfrieren oder überhitzen. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. Gebrauchsfertige Platten, die bis zur Verwendung in der Originalverpackung bei 2–8 °C aufbewahrt wurden, können bis zum Verfallsdatum inokuliert und für die empfohlene Inkubationsdauer inkubiert werden. Medium vor der Inokulation Raumtemperatur annehmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts

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

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Zur Kultivierung geeignete Rachenproben lassen sich durch Ausstreichen des Pharynx und des Tonsillenbereichs im Rachen mit einem Ausstrichupfer mit Polyester- oder Polyurethanspitze gewinnen; dabei sicherstellen, dass weder Zunge noch Uvula berührt wird. (Hinweis: Wenn die Ausstrichupfer auch bei den direkten Antigen-Nachweistests verwendet werden sollen, müssen Ausstrichupfer aus Polyester, Nylon oder Polyurethan mit Kunststoffschäften verwendet werden, wie beispielsweise **BD BBL CultureSwab** und **BD BBL CultureSwab** EZ-Entnahme- und Transportsystem). Proben, welche nicht aus dem Rachenbereich stammen, sollten gemäß den empfohlenen Verfahren kultiviert werden. Nähere Informationen entnehmen Sie bitte der entsprechenden Literatur.^{6,7}

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

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

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Die Agarfläche sollte glatt und feucht sein, jedoch ohne überschüssige Feuchtigkeit.

Die Probe nach dem Eintreffen im Labor schnellstmöglich ausstreichen. Die Ausstrichplatte dient primär zur Isolierung von Reinkulturen aus Proben mit Mischflora. Wenn das Material direkt von einem Abstrich kultiviert wird, alternativ den Abstrichupfer über einen kleinen Oberflächenbereich am Rand rollen; dann von diesem inokulierten Bereich aus ausstreichen. Den Agar zwei bis drei Mal in den Bereichen mit der stärksten Inokulation einstechen, ohne die Öse zuvor erneut zu sterilisieren.

Bei Verwendung dieser Platte mit derselben Probe die mit „I“ gekennzeichnete TSA II-Seite zuerst inokulieren. Dann die mit „II“ gekennzeichnete **ssA**-Seite inokulieren und ein **BD BBL Taxo A**-Blättchen auf den ausgestrichenen Bereich dieser Seite platzieren; d.h. dorthin, wo der Abstrichbereich den Bereich des ersten Ausstrichs mit der Öse schneidet.

Die inokulierten Platten bei 35 ± 2 °C in einer mit Kohlendioxid angereicherten Atmosphäre inkubieren. Wenn die Platten ohne Kohlendioxid inkubiert werden, sind die beta-Hämolysen und die Koloniegröße kleiner und es sind möglicherweise weniger Kolonien sichtbar.

Die Platten nach 18 bis 24 h untersuchen.

Qualitätssicherung durch den Anwender

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und die in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

X ERGEBNISSE

Nach einer Inkubation von 18 bis 24 h in einer mit Kohlendioxid angereicherten Atmosphäre erscheinen die Streptokokken der Gruppe A (*S. pyogenes*) auf **ssA** als durchscheinende oder blickdichte, weiße bis graue, kleine (1 bis 2 mm) Kolonien, die umgeben sind von einer beta-Hämolysenzone. Eine Verkleinerung im Vergleich mit der nichtselektiven Kontrolle, **BD BBL Trypticase Soy Agar** with 5 % Sheep Blood, ist typisch. Punktförmige oder sehr kleine Kolonien der alpha-, nichthämolysierenden oder anderen beta-hämolysierenden Streptokokken können in geringer Zahl wachsen, sie sollten jedoch die Isolierung der Streptokokken der Gruppe A oder die Interpretierung der Ergebnisse nicht beeinträchtigen. Die *Neisseria*-Spezies, viridans streptococci, staphylococci, gramnegative Stäbchen und die meisten beta-hämolysierenden Streptokokken außer denen der Gruppen A und B sind auf dem **ssA**-Medium gehemmt. Die Bacitracin-Empfindlichkeit kann zur Unterscheidung von Streptokokken der Gruppe A von denen der Gruppe B verwendet werden. Ein mäßiges bis starkes Wachstum von beta-Hämolysenkolonien, die eine wachstumsgehemmte Zone um das **BD BBL Taxo A**-Blättchen anzeigen, kann präsumtiv als *S. pyogenes* dokumentiert werden. Ein PYR (Pyroglutaminsäure)-Test kann ebenfalls durchgeführt werden. Er ist spezieller und für diesen Zweck genauso empfindlich wie der Bacitracin-Test.⁷ Gramfärbungen sollten vorgenommen und untersucht werden.

Ein serologischer Gruppierungstest kann durchgeführt werden, wenn gut isolierte beta-Hämolysenkolonien in ausreichender Menge vorhanden sind.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Da es so etwas wie das perfekte Medium nicht gibt, sind möglicherweise einige Stämme von Streptokokken der Gruppe A (*S. pyogenes*) sichtbar, die auf dem **ssA**-Medium schlecht wachsen; die Natur der Proben und der physiologische Status der Organismen kann die Isolierung der gewünschten Spezies beeinträchtigen und die Wirkung der hemmenden Eigenschaften des Mediums modifizieren. Aus diesem Grund ist es hilfreich, das Wachstum auf beiden Seiten der zweigeteilten Platte (Bi-Platte) zu vergleichen, um zusätzliche Informationen zu erhalten und um die optimale Isolierung potenzieller Pathogene zu gewährleisten.

Dieses gebrauchsfertige Agarmedium ist für die primäre Isolierung gedacht. Mit der primären Platte können einige Diagnosetests durchgeführt werden. Für biochemische Tests und serologische Nachweisverfahren wird jedoch die Verwendung einer Reinkultur empfohlen. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.⁶⁻⁸

XII LEISTUNGSMERKMALE

Bei einer klinischen Auswertung bestehend aus 460 Rachenkulturen waren insgesamt 117 positiv für Streptokokken der Gruppe A auf **BD BBL** Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (**ssA**) im Vergleich zu 100 auf SXT-Schafblutagar und 84 auf **BD BBL Trypticase** Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II). Von diesen positiven Kulturen wurden 103 innerhalb von 24 h anhand der beta-Hämolyse und der Bacitracin (0,04 Einheit)-Empfindlichkeit mit **ssA** identifiziert, im Vergleich zu 80 auf SXT und nur 32 auf der nichtselektiven TSA-Blutagarkontrolle.⁹

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr. Beschreibung

221783 **BD BBL** Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (**ssA**) // **BD BBL Trypticase** Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II), Packung mit 20, Schalen mit zweigeteilten Platten (Bi-Platten)

XIV LITERATUR

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.

Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung in Verbindung oder besuchen Sie 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.