



BBL Trypticase Soy Agar

L007516 • Rev. 11 • September 2014



MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Trypticase Soy Agar ist ein Mehrzweckmedium, welches das Wachstum hochselektiver wie nichtselektiver Mikroorganismen fördert.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Das Medium in den Ausgießröhrchen durch Erhitzen in kochendem Wasser verflüssigen. Auf 45 bis 50 °C abkühlen lassen. Dann je 1 mL steriles defibriniertes Schafsblut in 2 Röhrchen geben (zur Inokulation mit den Streptokokken-Stämmen) und in sterile Petrischalen gießen. Gut durchmischen, um das Blut im gesamten Medium gut zu verteilen. Dann mindestens 30 Min. lang verfestigen lassen.
2. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Mit einer für 0,01 mL kalibrierten Impfmö die Agaroberfläche mit einer 1 : 10-Verdünnung von 18 bis 24 Stunden alten Kulturen auf **Trypticase** Soy Broth inokulieren. Die Platten durch Bestreichen gründlich inokulieren, um das Vorhandensein gut isolierter Kolonien sicherzustellen.
 - b. Agarplatten oder Schrägagar in Röhrchen mit gelösten Verschlusskappen bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren. Blutagarplatten in Gegenwart von Kohlendioxid inkubieren.
3. Die Platten oder Röhrchen nach 18 bis 24 Stunden und nach 42 bis 48 Stunden hinsichtlich Wachstumsmenge und Pigmentierung überprüfen. Die Blutagarplatten auf Hämolyse überprüfen.
4. Zu erwartende Ergebnisse

Medium ohne Zugabe von Blut.

* <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Wachstum. Mittelgroße bis große Kolonien, gräulich-weiß, durchscheinend, leicht konvex, können mukoid sein.
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Wachstum
* <i>Staphylococcus aureus</i> , ATCC 25923	Wachstum. Mittelgroße bis große Kolonien, blickdicht, kreisförmig, vollständig mit cremefarben-gelben bis goldfarbenen Pigmenten.
Medium mit einem Zusatz aus sterilem defibriniertem Schafsblut (Ausgießröhrchen).	
* <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Wachstum. Von Alpha-Hämolysezonen (grün) umgebene Kolonien.
* <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Wachstum. Kolonien umgeben von Beta-Hämolysezonen (klar bis trüb).

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Röhrchen wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben begutachten.
2. Röhrchen stichprobenweise visuell auf Beschädigungen und Unregelmäßigkeiten überprüfen, um sicherzustellen, dass diese die spätere Nutzung nicht beeinträchtigen können.
3. pH-Wert mit dem Potentiometer bei Raumtemperatur darauf überprüfen, ob ein Bereich von 7,3 ± 0,2 eingehalten wird
4. Nicht inokulierte Röhrchen stichprobenweise bei 20 – 25 °C und bei 30 – 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf Kontamination durch Mikroorganismen überprüfen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Trypticase Soy Agar wird zur Isolierung von hochselektiven und nichtselektiven Mikroorganismen einschließlich anaerober und aerober Bakterien verwendet, ist jedoch nicht das ideale Medium für Anaerobier ist.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die Nährkomposition von **Trypticase Soy Agar** hat diesen Nährboden über viele Jahre zu einem beliebten Medium gemacht. Es handelt sich dabei um das Medium, das in der US-Pharmakopöe als Soybean-Casein Digest Agar Medium für den gesamten aeroben, mikrobiellen Bestimmungsanteil der mikrobiellen Grenzwert-Testverfahren definiert ist.¹

Das Medium wird für eine Vielzahl von Verwendungszwecken eingesetzt, zum Beispiel für den Erhalt von Stammkulturen, die quantitative Plattenbestimmung, die Isolierung von Mikroorganismen aus einer Vielzahl von Probenotypen und als Basis für Medien, die Blut enthalten.²⁻⁴ Es ist im Kompendium der Methoden zur Wasser-, Abwasser- und Lebensmitteluntersuchung enthalten.^{5,6}

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Durch die Verbindung aus Casein und Soyapeptonen in **Trypticase Soy Agar** erhält das Medium einen hohen Nährgehalt, da es organischen Stickstoff liefert, besonders Aminosäuren und langkettige Peptide. Durch das Natriumchlorid wird das osmotische Gleichgewicht gewahrt.

VII REAGENZIEN

Trypticase Soy Agar

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	15,0	g
Papainisch abgebautes Sojamehl	5,0	g
Natriumchlorid	5,0	g
Agar	15,0	g

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Röhrchen mit fest sitzenden Verschlusskappen sind vorsichtig zu öffnen, um Verletzungen durch Glasbruch zu vermeiden.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen wie Hepatitis-Viren und HIV enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“⁷⁻¹⁰ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Präparierte Röhrchen, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Röhrchen nach Erhalt bei 2 – 25 °C im Dunkeln aufbewahren. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. In Röhrchen vorschriftsmäßig aufbewahrte Nährböden können bis zum Verfallsdatum inokuliert und über die empfohlene Zeit inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts

Röhrchen bei Anzeichen von Kontamination durch andere Mikroorganismen, Verfärbung, Eintrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Detaillierte Informationen enthält die entsprechende Fachliteratur.^{3,11} Die Proben sollten vor der Gabe von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Trypticase Soy Agar

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Antiseptische Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Das Medium in den Ausgießröhrchen durch Erhitzen in kochendem Wasser verflüssigen. Auf 45 – 50 °C abkühlen lassen, nach Bedarf Blut hinzufügen und in sterile Petrischalen gießen.

Im Normalfall die Probe nach dem Eintreffen 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 Abstrichtupfer über einen kleinen Oberflächenbereich am Rand rollen; dann von diesem inokulierten Bereich aus ausstreichen. Da viele Pathogene bei der Primärisolierung Kohlendioxid benötigen, können Agarplatten in einer Atmosphäre inkubiert werden, die ca. 3 bis 10 % CO₂ enthält. Platten 18 bis 24 Stunden lang bei 35 ± 2 °C inkubieren.

Trypticase Soy Agar in Röhrchen dient primär zur Kultivierung und Erhaltung von Reinkulturen von Mikroorganismen. Die Röhrchen sollten mit einer Inokulations-Impföse inokuliert und unter denselben Bedingungen wie das Agarmedium inkubiert werden.

Qualitätssicherung durch den Anwender

Siehe „Qualitätskontrollverfahren“.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und 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 der Inkubation zeigen die meisten Platten einen Bereich mit konfluentem Wachstum. Da es sich bei dem Ausstrichverfahren eigentlich um eine „Verdünnungsmethode“ handelt, werden geringere Mengen von Mikroorganismen auf den Ausstrichbereichen positioniert. Folglich sollten ein oder mehrere dieser Bereiche isolierte Kolonien des in der Probe enthaltenen Organismus enthalten. Darüber hinaus kann das Wachstum jedes Organismus auf der Grundlage des Wachstums in den Ausstrichbereichen semiquantitativ erfasst werden.

Hämolytische Reaktionen sollten für Organismen, die auf einem Blut enthaltenden Medium inokuliert werden, dokumentiert werden.

Reinkulturen enthaltener Schrägagar in Röhrchen kann für weitere Untersuchungen oder nach Bedarf als Stammkultur verwendet werden.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zum Nachweis müssen die Organismen in Reinkultur vorhanden sein. Für die endgültige Identifizierung sollten morphologische, biochemische oder serologische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{3,11,12}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Trypticase Soy Agar (TSA) mit 5 % Schafsblut wurde als Kontrolle in einer Untersuchung unter Verwendung einer mit Bouillon angereicherten Kultur (Todd Hewitt) und der optischen Immunoassay-Methode zur Diagnose von β -hämolytischen Streptokokkeninfektionen verwendet. Es wurden 502 Proben getestet. TSA mit 5 % Schafsblut hat eine Empfindlichkeit und Spezifität von jeweils 92,5 % und 99,4 %.¹³ Nguyen et al. verwendeten **Trypticase Soy Agar** mit 5 % Schafsblut als „Goldstandard“ für den Nachweis von Streptokokken Gruppe B im unteren Genitalbereich schwangerer Frauen.¹⁴ In einer anderen Studie konnten Rossmann et al. *Lautropia mirabilis* auf **Trypticase Soy Agar** mit 5 % Schafsblut aus den Oralöffnungen von HIV-infizierten Kindern erfolgreich neu isolieren.¹⁵ Von den 85 Kindern, die in dieser Studie untersucht wurden, waren 35 (41,4 %) *L. mirabilis*-positiv. Isenberg et al. verwendeten **Trypticase Soy Agar** mit 5 % Schafsblut als Kontrolle zur Evaluierung der Gewinnung von *Enterococcus* aus dem untersuchten, selektiven Medium.¹⁶ Es wurden 250 aus klinischem Material isolierte Streptokokkenstämme Gruppe D und 8 Stämme des National Communicable Disease Center (Atlanta, USA) verwendet. Kantor et al. bewahrten Stammkulturen bei Raumtemperatur unter Verwendung von mit sterilem Mineralöl bedeckten **Trypticase Soy Agar-Schrägagar** auf, und zwar für eine Studie zur Identifizierung nichtfermentierender gramnegativer Bakterien im klinischen Labor.¹⁷

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr. Beschreibung

- | | |
|--------|--|
| 221082 | BD BBL Trypticase Soy Agar Deeps (Pour Tubes), 20 mL, Packung mit 10 Röhrchen der Größe A |
| 221086 | BD BBL Trypticase Soy Agar Slants, Packung mit 10 Röhrchen der Größe K |
| 221087 | BD BBL Trypticase Soy Agar Slants, Karton mit 100 Röhrchen der Größe K |

XIV LITERATUR

1. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2006. The U.S. pharmacopeia 29/The national formulary 24-2006. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. Chapin, K.C., and P.R. Murray. 1999. Media, p. 1687-1707. 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.
5. Clesceri, L.S., A.E. Greenberg, and A.D. Eaton (ed.) 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. Downes, F.P. and K. Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Tenover, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Tenover, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
13. Fries, S.M. 1995. Diagnosis of group A streptococcal pharyngitis in a private clinic: comparative evaluation of an optical immunoassay method and culture. J. Ped. vol. 126, number 6.
14. Nguyen, T.M. et al. 1998. Detection of group B streptococcus: comparison of an optical immunoassay with direct plating and broth-enhanced culture methods. J. Matern. Fetal. Med. Jul-Aug; 7(4):172-176.
15. Rossmann, S.N. et al. 1998. Isolation of *Lautropia mirabilis* from oral cavities of human immunodeficiency virus infected children. J. Clin. Microbiol. 36:1756-1760.
16. Isenberg, H.D., D. Goldberg, and J. Sampson. 1970. Laboratory studies with a selective medium. Appl. Microbiol. Sept. 1970, p.433-436.
17. Kantor, L.T., D.K. Spyros, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. Amer. J. Med. Tech. vol. 41, no. 1.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder www.bd.com/ds.



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.

BD, BD Logo, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.