



BBL TSI Agar Slants



L007520 • Rev. 10 • Oktober 2015

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE (Optional)

I EINFÜHRUNG

TSI-Agar (Eisen-Schrägagar mit verdreifachtem Zucker) ist ein Differenzierungsmedium für gramnegative Enteroorganismen auf der Grundlage ihrer Fähigkeit zur Fermentierung von Dextrose, Lactose und Saccharose sowie zur Bildung von Sulfiden.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Unter Verwendung von 18 bis 24 h alten Kulturen auf **Trypticase**-Soja-Schrägagar die Röhrchen mit einer Inokulationsnadel inokulieren; die Nadel bis zum Röhrchenboden eintauchen und an der Schrägseite wiederholt ausstreichen.
 - b. Die Röhrchen mit gelösten Verschlüssen in einer aeroben Atmosphäre bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubieren.
2. Röhrchen nach 18 bis 24 h auf Wachstum und Reaktionen überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

	Schrägseite	Röhrchenboden	Gas	H ₂ S
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Sauer	Sauer	+	–
* <i>Salmonella enterica</i> Subspezies <i>enterica</i> Serotyp Typhimurium ATCC 14028	Alkalisch	Sauer	+/-	+
* <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Alkalisch	Sauer	–	–
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Alkalisch	Alkalisch	–	–

* Empfohlener Organismustamm für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

HINWEIS: Dieses Medium ist gemäß CLSI M22-A3 von Qualitätskontrolltests durch den Anwender ausgenommen.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Röhrchen wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben begutachten.
2. Die repräsentativen Röhrchen auf sichtbare Beschädigungen prüfen, durch die ihre Verwendung beeinträchtigt werden könnte.
3. Den pH-Wert potentiometrisch bei Raumtemperatur bestimmen. Er sollte bei $7,3 \pm 0,2$ liegen.
4. Nicht inokulierte repräsentative Röhrchen bei 20 bis 25°C und 30 bis 35°C inkubieren und nach 7 Tagen auf mikrobielle Kontamination untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

TSI-Agar dient zur Differenzierung von gramnegativen Enterobazillen auf Basis der Kohlenhydrat-Fermentierung und der Schwefelwasserstoffproduktion.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

TSI-Agar dient zur Bestimmung der Kohlenhydrat-Fermentierung und der Schwefelwasserstoffbildung im Rahmen der Identifizierung von gramnegativen Bazillen.^{1,2}

Die Zusammensetzung für TSI-Agar wurde von Hajna entwickelt, der der Zweifachzucker-Zusammensetzung von Kligler-Eisen-Agar (Dextrose und Lactose) zusätzlich Saccharose zusetzte.³ Durch Saccharose wird die Empfindlichkeit des Mediums erhöht, so dass neben Lactose- und Dextrose-Fermentern auch Saccharose fermentierende Bazillen nachgewiesen werden können.

Die Kohlenhydrat-Fermentierung wird durch die Anwesenheit von Gas und einen sichtbaren Farbumschlag (von Rot nach Gelb) des pH-Indikators Phenolrot nachgewiesen. Die Schwefelwasserstoffproduktion wird durch die Anwesenheit eines Niederschlags angezeigt, der das Medium im Bereich des Röhrchenbodens schwarz färbt.

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

TSI-Agar enthält drei Zucker (Dextrose, Lactose und Saccharose), Phenolrot zum Nachweis der Kohlenhydrat-Fermentierung und Eisen (II)-Sulfat zum Nachweis der Schwefelwasserstoffproduktion (angezeigt durch eine Schwarzfärbung im Bereich des Röhrchenbodens).

Die Kohlenhydrat-Fermentierung wird durch Gasbildung und einen Farbumschlag des pH-Indikators von Rot nach Gelb angezeigt. Um den Nachweis von Organismen zu erleichtern, die nur Dextrose fermentieren, beträgt die Dextrosekonzentration ein Zehntel der Konzentration von Lactose oder Saccharose. Die während der Dextrosefermentierung in der Röhrchenschragseite gebildete geringe Säuremenge wird schnell oxidiert, so dass das Medium seine rote Farbe behält oder in einen alkalischen pH-Bereich zurückgeht. Dagegen bleibt wegen der geringeren Sauerstoffspannung im Bereich des Röhrchenbodens die saure Reaktion (gelb) bestehen.

Nachdem der begrenzte Dextrosevorrat aufgebraucht wurde, beginnen die Organismen, Lactose bzw. Saccharose zu fermentieren, soweit sie dazu in der Lage sind.⁴

Die Röhrchenverschlüsse nur lose aufsetzen, um einen ungehinderten Luftaustausch für die alkalischen Bedingungen an der Schragseite zu gewährleisten. Bei fest geschlossenen Verschlüssen kann eine Säurereaktion (allein durch Dextrosefermentierung verursacht) bis zur Schragseite fortschreiten.

VII REAGENZIEN

TSI Agar

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser		
Pankreatisch abgebautes Casein	10,0	g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	10,0	g
Natriumchlorid	5,0	g
Lactose	10,0	g
Saccharose	10,0	g
Dextrose	1,0	g
Ammonium Eisen (II)-sulfat	0,2	g
Natriumthiosulfat	0,2	g
Phenolrot	0,025	g
Agar	13,0	g

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Fest verschlossene Röhrchen sollten vorsichtig geöffnet werden, um Verletzungen durch Glasbruch zu vermeiden.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen erfolgen. Vorbereitete Röhrchen, Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien im Autoklav sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Nach Erhalt Röhrchen im Dunkeln bei 2 – 8 °C lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. Medien in Röhrchen, die vor Gebrauch gemäß der Anleitung auf dem Etikett gelagert werden, können bis zum Verfallsdatum inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts

Röhrchen bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Die Handhabung der für die Kultivierung geeigneten Proben kann auf verschiedene Arten geschehen. Detaillierte Informationen enthält die entsprechende Fachliteratur.^{2,5} Die Proben sollten vor der Verabreichung von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

TSI Agar Slants

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Aseptische Kautelen beachten.

Für die Inokulation vorsichtig nur die Mitte einer isolierten Kolonie auf einem Entero-Plattenmedium mit einer kühlen sterilen Nadel berühren, die Nadel im Medium bis zum Röhrchenboden eintauchen und anschließend auf der Oberfläche des Schrägagars austreichen. Von jeder Primärplatte sollten mehrere Kolonien einzeln untersucht werden, da Mischinfektionen auftreten können.

Die Röhrchen mit gelösten Verschlüssen bei 35 °C inkubieren und nach 18 bis 24 h auf Kohlenhydrat-Fermentierung, Gasbildung und Schwefelwasserstoffbildung untersuchen. Als Ergebnis kann eine beliebige Kombination dieser Reaktionen auftreten. Die Röhrchen nicht länger als 24 h inkubieren, da sonst die saure Reaktion der Lactose- und Saccharosefermenter an der Schräge in den alkalischen Zustand zurückkehren kann.

Qualitätskontrolle durch den Anwender

Siehe „Massnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Jede Mediencharge wurde gemäß entsprechenden Qualitätskontrollorganismen getestet und dieser Test erfüllt die Produktspezifikationen und die zutreffenden CLSI-Standards. Wie immer sollten Qualitätskontrolltests unter Einhaltung der kommunal, landesweit und/oder bundesweit geltenden Vorschriften, der Zulassungsbestimmungen und/oder der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen.

X ERGEBNISSE

Die Reaktionen des unbekannten Isolats mit den Reaktionen der bekannten Kontrollorganismen vergleichen.

Kohlenhydrat-Fermentierung wird durch eine gelbe Färbung des Mediums angezeigt. Weist das Medium im Bereich des Röhrchenbodens eine gelbe Färbung auf (sauer), an der Schräge jedoch eine rote Färbung (alkalisch), fermentiert der Testorganismus ausschließlich Dextrose (Glucose).

Eine gelbe Färbung (sauer) an der Schräge und im Bereich des Röhrchenbodens zeigt an, dass der Testorganismus Dextrose, Lactose und/oder Saccharose fermentiert.

Eine rote Färbung (alkalisch) an der Schräge und im Bereich des Röhrchenbodens zeigt an, dass der Testorganismus ein Nonfermenter ist.

Schwefelwasserstoffbildung hat einen schwarzen Niederschlag im Bereich des Röhrchenbodens zur Folge.

Gasproduktion wird durch Spaltung des Mediums oder Risse im Medium angezeigt.

Zusätzliche Informationen sind in der entsprechenden Fachliteratur zu finden.^{2,5-7}

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Bei einigen Organismen kann auf Kligler-Eisen-Agar Schwefelwasserstoffproduktion zu beobachten sein, aber nicht auf TSI-Agar. Dies liegt daran, dass die in TSI-Agar eingesetzte Saccharose den Enzymmechanismus für die Bildung von H₂S unterdrückt. Insbesondere H₂S-produzierende *Salmonellen* und einige Mitglieder der *Enterobacteriaceae* testen auf TSI-Agar u.U. nicht H₂S-positiv.¹

Wie bei Kligler-Eisen-Agar können Schwefelwasserstoff produzierende Organismen auf TSI-Agar u.U. so viel schwarzen Niederschlag (Eisensulfide) bilden, dass die am Röhrchenboden produzierte Säure vollständig verdeckt wird. Bei Reduzierung der H₂S-Konzentration liegen am Röhrchenboden jedoch saure Bedingungen vor (wenn auch nicht sichtbar) und sollten als solche aufgezeichnet werden.¹

Zur Identifizierung müssen die Mikroorganismen in Reinkultur vorliegen. Für die endgültige Identifizierung sollten morphologische, biochemische und/oder serologische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{2,5-7}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von TSI-Agar auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Repräsentative Proben der Charge werden mit Kulturen von *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028) und *Shigella flexneri* (ATCC 12022) auf **Trypticase**-Soja-Agar getestet, indem der Schrägagar ausgestrichen und die Nadel bis zum Röhrchenboden eingetaucht wird. Die Röhrchen werden mit gelösten Verschlüssen bei 35 ± 2 °C inkubiert und nach 18 bis 24 h auf Wachstum und Reaktionen überprüft. Das Wachstum aller Organismen fällt mittel bis stark aus. Die Schräge des mit *E. coli* inokulierten Röhrchens weist eine saure Reaktion auf, während die Schräge aller anderen inokulierten Röhrchen alkalische Bedingungen zeigen. *S. flexneri* produziert eine saure Reaktion am Röhrchenboden, *P. aeruginosa* eine alkalische Reaktion. *E. coli* produziert Säure und Gas am Röhrchenboden. *Salmonella* Typhimurium produziert eine saure Reaktion am Röhrchenboden in Kombination mit einer Schwarzfärbung des Mediums; dabei kann u.U. auch Gas gebildet werden.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
221038	BD BBL TSI Agar Slants, Packung mit 10 Röhrchen der Größe K
221039	BD BBL TSI Agar Slants, Karton mit 100 Röhrchen der Größe K

XIV LITERATUR

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
3. Hajna, A.A. 1945. Triple-sugar iron agar medium for the identification of the intestinal group of bacteria. J. Bacteriol. 49:516-517.
4. Baron, E.J., L.R. Peterson and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc.
5. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Ewing, W.H. 1985. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
7. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

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, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD