



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

L007379 • Ред. 12 • июнь 2017 г.

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

I ВВЕДЕНИЕ

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA) (селективный агар для стрептококков группы А с 5 % овечьей крови) — это селективная среда, используемая для изоляции и предварительной идентификации стрептококков группы А в образцах, взятых из горла, а также в других клинических образцах. **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II)** (триптиказо-соевый агар с 5 % овечьей крови, TSA II) стимулируют рост требовательных к питательной среде микроорганизмов и обеспечивает визуализацию гемолитических реакций. Секция среды TSA II имеет метку «I», а среды **ssA** — метку «II» на двухсекционной чашке.

II МЕТОДИКА ТЕСТИРОВАНИЯ

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

- Засейте репрезентативные образцы культурами, разбавленными до концентрации 10^3 – 10^4 КОЕ/0,01 мл.
 - В каждую чашку добавьте 0,01 мл разбавленной культуры и выполните штрих для изоляции. Сделайте прокол в области первичного штриха перед нанесением штрихов на остальную поверхность чашки.
 - Поместите диск **BD BBL Taxo A** на пересечении первой и второй области штрихования во всех чашках, в которых посеян вид *S. pyogenes*.
 - Инкубируйте чашки при температуре 35 ± 2 °C в аэробной атмосфере, обогащенной диоксидом углерода.
 - Для неселективного контроля всех микроорганизмов используйте триптиказо-соевый агар с 5 % овечьей крови (TSA II).
- Проверьте чашки через 18–24 ч на бета-гемолиз в области прокола и интенсивность роста, ингибирование, размер колонии и гемолитические реакции. Измерьте и зафиксируйте размер области вокруг диска **BD BBL Taxo A** на культуре *S. pyogenes*.
- Ожидаемые результаты

Микроорганизмы	ATCC	Выделение
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Для обоих штаммов <i>S. pyogenes</i> рост от умеренного до обильного (в зависимости от штампа и разбавления), колонии от точечных до очень небольших, окруженные зонами бета-гемолиза. Вокруг диска BD BBL Taxo A четко видна зона ингибирования роста.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	51574	
<i>Streptococcus mitis</i>	6249	Частичное ингибирование
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Полное ингибирование
<i>Neisseria subflava</i>	14799	Полное ингибирование
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Полное ингибирование

*Штамм микроорганизма, рекомендуемый для контроля качества.

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

- Засейте репрезентативные образцы перечисленными далее разбавленными культурами.
 - С помощью мерного пипеточного дозатора или эквивалентным способом перенесите 0,01 мл раствора с концентрацией 30–300 КОЕ в каждую чашку и выполните посев с распределением с помощью стерильного стеклянного шпателя.
 - Инкубируйте штамм *Staphylococcus* при температуре 35 ± 2 °C в аэробной атмосфере, а штаммы *Streptococcus* — при температуре 35 ± 2 °C в аэробной атмосфере, обогащенной диоксидом углерода.
- Проверьте чашки через 18–24 ч на интенсивность роста, размер колонии и гемолитические реакции.
- Ожидаемые результаты

Микроорганизмы CLSI	ATCC	Выделение
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Рост; бета-гемолиз
* <i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Рост; альфа-гемолиз
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Рост
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Рост

*Штамм микроорганизма, рекомендуемый для контроля качества.

III ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

- Проверьте чашки, как описано в разделе «Разложение продукта».
- Визуально проверьте репрезентативные чашки, чтобы убедиться в том, что существующие физические дефекты не будут препятствовать использованию.
- Определите уровень pH потенциометрическим способом при комнатной температуре, чтобы убедиться в соответствии характеристикам $7,4 \pm 0,2$ для обеих сред.
- Проверьте устойчивость чашек во время процедуры посева.
- Выдерживайте незасеянные репрезентативные чашки при температуре 35 ± 2 °C в течение 72 часов и проверьте на наличие бактериального загрязнения.

СВЕДЕНИЯ О ПРОДУКТЕ

IV НАЗНАЧЕНИЕ

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA) (селективный агар для стрептококков группы А с 5 % овечьей крови, **ssA**) рекомендуется для использования в качестве основной селективной среды для первичной изоляции стрептококков группы А (*S. pyogenes*) в образцах, взятых из горла, а также в других клинических образцах при наличии подозрений на *S. pyogenes*. В данной среде возможен также рост стрептококков группы В, а большинство других стрептококков, видов *Neisseriae*, стафилококков и грамотрицательных бактерий ингибируется. Среда предназначена для использования вместе с дисками **BD BBL Taxo A** (бацитрацин, 0,04 единицы) для предположительной идентификации *S. pyogenes*.

BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II) (триптиказо-соевый агар с 5 % овечьей крови, TSA II) используется для культивирования требовательных к питательной среде микроорганизмов и визуализации гемолитических реакций, вызываемых многими видами бактерий.

V КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ

Заражение стрептококками группы А по Лэнсфилд (*S. pyogenes*) может привести к серьезным последствиям, таким как ревматизм и острый гломерулонефрит. Поэтому очень важно обнаружить и выявить инфекцию на раннем этапе.

Благодаря своей питательной композиции триптиказо-соевый агар является популярной средой как в необогащенном виде, так и в качестве основы для сред, содержащих кровь. Триптиказо-соевый агар с 5 % овечьей крови (TSA II) широко применяется для выделения и культивирования нетребовательных микроорганизмов и для определения гемолитических реакций, которые являются важными характеристиками дифференциации бактерий, особенно видов *Streptococcus*.

Так как в образце культур, взятом из области горла и помещенном в чашки кровяного агара, наблюдается повышенный рост флоры, в кровяной агар добавляются селективные компоненты, позволяющие улучшить процесс обнаружения стрептококков группы А.

Оценка различных противомикробных препаратов, полученная в наших лабораториях, выявила улучшенную селективность по отношению к другим проверенным средам. Данная среда (**ssA**) позволяет предварительно выявить стрептококки группы А на основании их чувствительности к бацитрацину и бета-гемолизу за 24 часа после посева с использованием образцов и инкубирования среды в атмосфере, обогащенной диоксидом углерода.¹

Двухсекционная чашка, содержащая неселективный кровяной агар (TSA II) в секции с меткой «I» и селективный кровяной агар (**ssA**) в секции с меткой «II» позволяет выполнять выделение стрептококков группы А и оценку всей микрофлоры образца в одной чашке.

VI ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ

Комбинация казеина и соевых пептонов в основе триптиказо-соевого агара обеспечивает высокую питательность среды, являясь источником органического азота. Хлорид натрия поддерживает осмотическое равновесие.

Дефибринированная овечья кровь обеспечивает необходимые гемолитические реакции стрептококков. Кроме того, подавляется рост *Haemophilus haemolyticus* — непатогенных микроорганизмов, гемолитические колонии которых не отличимы от бета-гемолитических стрептококков.

Триптиказо-соевый агар с 5 % овечьей крови (TSA II) обеспечивает превосходный рост и бета-гемолиз культуры *Streptococcus pyogenes* (группа А по Лэнсфилд), а также превосходный рост и соответствующие гемолитические реакции других нетребовательных микроорганизмов. Эта среда подходит для использования вместе с дисками бацитрацина (**BD BBL Taxo A**) низкой концентрации (0,04 единицы) для предположительной идентификации стрептококков группы А (*S. pyogenes*).

Селективный агар для стрептококков группы А с 5 % овечьей крови (**ssA**) сочетает в себе уникальную комбинацию селективных компонентов триптиказо-соевого агара с овечьей кровью (TSA II) для подавления обычной флоры горловой полости с целью улучшения восстановления микроорганизмов *S. pyogenes*. Дефибринированная овечья кровь позволяет увеличить рост требовательных к питательной среде микроорганизмов и обнаружить типичный бета-гемолиз видов *S. pyogenes*. Стрептококки бета-гемолиза, которые показывают зону ингибирования вокруг диска с бацитрацином (0,04 единицы), могут быть предварительно определены как стрептококки группы А.

VII РЕАГЕНТЫ

BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA)

Примерная рецептура* на литр очищенной воды

Панкреатический гидролизат казеина.....	14,5	г
Папаиновый гидролизат соевой муки.....	5,0	г
Натрия хлорид.....	5,0	г
Агар.....	14,0	г
Факторы роста.....	1,5	г
Селективные реагенты.....	40,2	мг
Овечья кровь, дефибринированная.....	5	%

BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II)

Примерная рецептура* на литр очищенной воды

Панкреатический гидролизат казеина.....	14,5	г
Папаиновый гидролизат соевой муки.....	5,0	г
Натрия хлорид.....	5,0	г
Агар.....	14,0	г
Факторы роста.....	1,5	г
Дефибринированная овечья кровь.....	5	%

*При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

Предупреждения и меры предосторожности. Для диагностики *in vitro*.

Если наблюдается избыток влаги, переверните чашку вверх дном со смещенной крышкой и просушите во избежание образования непроницаемого слоя между верхней и нижней частями чашки во время засеивания.

В клинических образцах могут присутствовать патогенные микроорганизмы, в том числе вирус гепатита и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). При работе с любыми предметами, загрязненными кровью и другими биологическими жидкостями, соблюдайте правила, принятые в учреждении, а также стандартные меры предосторожности.²⁻⁵ После использования перед утилизацией стерилизуйте в автоклаве подготовленные чашки, контейнеры для образцов и другие загрязненные материалы.

Условия хранения. После получения храните чашки в темноте при температуре от 2 до 8 °С. Избегайте замораживания и перегрева. Открывайте непосредственно перед использованием. Сведите к минимуму воздействие света. Приготовленные чашки, хранящиеся в оригинальной обертке при температуре от 2 до 8 °С, можно засеивать до истечения срока годности и инкубировать в течение рекомендованного срока. Перед посевом дайте среде нагреться до комнатной температуры.

Разложение продукта. При наличии признаков бактериального загрязнения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта не используйте чашки.

VIII ВЗЯТИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

Образцы с подходящей культурой, взятые из горла, можно получить с помощью проведения в области глотки и тонзиллярной области тампоном, пропитанным полиэфиром или полиуретаном, стараясь не дотрагиваться до языка или небного язычка. (Примечание. Если мазки используются также для прямых тестов на обнаружение антигена, необходимо использовать тампоны из полиэстера, вискозы или полиуретана на пластиковых стержнях, например системы для сбора и транспортировки образцов **BD BBL CultureSwab** и **BD BBL CultureSwab EZ**.) Микроорганизмы, отличные от микроорганизмов области горла, необходимо культивировать в соответствии с рекомендуемыми процедурами. Подробные сведения приведены в соответствующих справочных материалах.^{6,7}

IX МЕТОДИКА

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

Необходимые, но не предоставляемые материалы. Требуется дополнительная питательная среда, реагенты, культуры микроорганизмов для контроля качества и лабораторное оборудование.

Методика тестирования. Поверхность агара должна быть гладкой и влажной, но без избытка влаги.

Выполните посев образца как можно скорее после поступления в лабораторию. Чашка для посева используется, главным образом, для отделения чистых культур от образцов, содержащих смешанную флору. В качестве альтернативы, если материал засеивается непосредственно с тампона, проверните тампон над небольшим участком поверхности возле края, а затем сделайте штрихи с этого засеянного участка. Не выполняя повторную стерилизацию петли, проткните агар два-три раза в области наиболее плотного посева.

При использовании данной чашки с одним и тем же образцом сначала засейте сторону TSA II с меткой «I». Затем засейте сторону **ssA** с меткой «II» и поместите диск **BD BBL Taxo A** на часть этой стороны, содержащей мазок, в том месте, где область мазка пересекается с областью первоначального посева петлей.

Инкубируйте засеянные чашки при температуре 35 ± 2 °С в атмосфере, обогащенной диоксидом углерода. При инкубации чашек без диоксида углерода бета-гемолитические зоны и колонии будут иметь меньший размер, и меньше колоний будут видны.

Проверьте чашки спустя 18–24 ч.

Контроль качества.

Следуйте требованиям контроля качества в соответствии с применимым местным, региональным и/или федеральным законодательством, требованиями аккредитации и методиками контроля качества, принятыми в лаборатории. Для получения информации о надлежащих методиках контроля качества пользователям рекомендуется ознакомиться с документацией Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI, ранее NCCLS) и положениями Закона о совершенствовании работы клинических лабораторий (CLIA).

X РЕЗУЛЬТАТЫ

После 18–24 ч инкубации в атмосфере, обогащенной диоксидом углерода, стрептококки групп A (*S. pyogenes*) в **ssA** образуют полупрозрачные или непрозрачные колонии от белого до серого цвета небольшого размера (1–2 мм), окруженные областями бета-гемолиза. Уменьшение размера по сравнению с неселективной контрольной средой (триптиказо-соевый агар с 5 % овечьей крови **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood**) является типичным. Точечные или очень небольшие колонии стрептококков с альфа-гемолизом, без гемолиза или бета-гемолизом могут показывать незначительный рост, однако они не будут препятствовать выделению стрептококков группы A или оказывать влияние на результаты. Виды *Neisseria*, зеленящие стрептококки, стафилококки, грамотрицательные палочки и большинство бета-гемолитических стрептококков, отличных от группы A и B, ингибируются в среде **ssA**. Бацитрацин может успешно использоваться для дифференцирования стрептококков группы A от группы B. Рост бета-гемолитических колоний от умеренного до обильного, указывающий зону ингибирования вокруг диска **BD BBL Taxo A**, позволяет предположить микроорганизмы *S. pyogenes*. Можно также выполнить тест PYR (пироглутаминовая кислота). Для этих целей данный тест является более точным, чем тест бацитрацином.⁷ Необходимо выполнить и проверить окрашивание по Граму.

При наличии достаточного числа хорошо изолированных бета-гемолитических колоний может быть выполнен тест серологической группировки.

XI ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Поскольку идеальных сред не существует, некоторые штаммы стрептококков группы A (*S. pyogenes*) могут плохо расти в среде **ssA**; особенности образцов и физиологическое состояние микроорганизмов могут влиять на восстановление исследуемых видов и эффективность подавления роста микроорганизмов на этой среде. Поэтому полезно сравнить рост на обеих сторонах двухсекционной чашки для получения дополнительной информации и обеспечения оптимального выделения любых потенциальных патогенов.

Эта готовая среда в чашке предназначена для первичной изоляции. Чашки с первичной средой можно использовать в некоторых диагностических тестах. Однако для проведения биохимических тестов и применения серологических методик рекомендуется использовать чистую культуру. Дополнительную информацию и рекомендованные методики см. в соответствующих документах.⁶⁻⁸

XII ЭФФЕКТИВНОСТЬ

При клинической оценке 460 культур, взятых из горла, было выявлено всего 117 положительных культур для стрептококков группы A (*S. pyogenes*) в селективном агаре для стрептококков группы A с 5 % овечьей крови (**ssA**) по сравнению со 100 в агаре с овечьей кровью SXT и 84 в триптиказо-соевом агаре с 5 % овечьей крови (TSA II). Из этих положительных культур 103 были успешно идентифицированы на основании бета-гемолиза и бацитрацина (0,04 единицы) за 24 ч в среде **ssA** по сравнению с 80 в SXT и 32 в неселективном кровяном агаре TSA.⁹

XIII НАЛИЧИЕ

№ по каталогу	Описание
221783	BD BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA) // BD BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II) , 20 двухсекционных чашек в упаковке

XIV СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

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.

Служба технической поддержки: обращайтесь к местному представителю компании BD или на сайт 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.