



BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II) og BBL MacConkey II Agar with MUG- I Plate



L009211 • Rev. 04 • August 2017

KVALITETSKONTROLPROCEDURER

I INDLEDNING

BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (**BD BBL Trypticase** sojaagar med 5 % fåreblood) bruges til vækst af kræsne organismer og til visualisering af hæmolytiske reaktioner. **BD BBL MacConkey II Agar with MUG** (**BD BBL MacConkey II** agar med MUG) anvendes til den foreløbige identifikation af *Escherichia coli*.

II FUNKTIONSTESTPROCEDURE

A. 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 0,1 mL af en fortynding, hvilket giver 30 til 300 CFU til hver plade, og inokulér ved hjælp af spredning med en steril glasspreder.
 - Inkubér *Staphylococcus* og *Escherichia* stammer ved 35 ± 2 °C i en aerob atmosfære og *Streptococcus* stammer 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 Stammer	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.

B. BD BBL MacConkey II Agar with MUG

- Inokulér repræsentative prøver med fortyndinger af de kulturer, der er anført herunder.
 - Stryg pladerne til isolering med 18 til 24 h boillonkulturer fortyndet 10^{-1} . For *Proteus mirabilis* laves to ekstra tifold-fortyndinger inden udstrykning.
 - Inkubér pladerne ved 35–37 °C i en aerob atmosfære.
 - Inkludér **BD BBL Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood plader som non-selektive kontroller for alle organismer.
- Undersøg pladerne efter 18 til 48 h for vækst, fluorescens, pigmentering og selektivitet.
- Forventede resultater

Organismer	ATCC	Isolering	Kolonifarve	Fluorescens
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Vækst	Rosenrøde kolonier	+
<i>Proteus mirabilis</i>	12453	Vækst	Farveløse kolonier, hæmning af sværmning	–
* <i>Salmonella enterica</i> underart Typhimurium serotype	14028	Vækst	Farveløse kolonier	–
* <i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Hæmning (delvis eller fuldstændig)	N/A	–

*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 $7,4 \pm 0,2$ (TSA II) og $7,1 \pm 0,2$ (**BD BBL MacConkey II Agar with MUG**).
- 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 Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood bruges til dyrkning af kræsne organismer og til visualisering af hæmolytiske reaktioner, som frembringes af mange bakteriearter.

BD BBL MacConkey II Agar with MUG anvendes til den foreløbige identifikation af *Escherichia coli*.

V RESUMÉ OG FORKLARING

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

Den ernæringsmæssige sammensætning af **BD 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 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.

B. BD BBL MacConkey II Agar with MUG

BD BBL MacConkey II Agar formuleringen blev stillet til rådighed i 1983. Den blev specielt designet til at forbedre hæmningen af sværmende *Proteus* arter for at opnå en mere definitiv differentiering af laktosefermentorer og ikke-fermentorer samt til væksthæmning af enteriske patogener.

Trepeta og Edberg¹ modificerede MacConkey Agar ved at inkorporere MUG (4-methylumbelliferyl-β-D-glukuronid). Resultatet var et medium, der gjorde det muligt for forfatterne at lave en foreløbig identifikation af *E. coli* fra det primære plademedium inden for 5 min.

VI PROCEDURENS PRINCIPPER

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

Kombinationen af kasein og sojapeptoner i **BD Trypticase** sojaagarbasen gør mediet særdeles nærende ved at give organisk nitrogen, især aminosyrer og storkædede peptider. Natriumchloriden opretholder osmotisk ligevægt.

Defibrineret fåreblod er det mest almindeligt anvendte blod til at berige agarbasemedier.² Streptokokkers hæmolytiske reaktioner er typiske, og vækst af *Haemophilus haemolyticus*, et non-patogen, hvis hæmolytiske kolonier ikke kan skelnes fra kolonier af beta-hæmolytiske streptokokker, hæmmes.

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

B. BD BBL MacConkey II Agar with MUG

BD BBL MacConkey II Agar er et selektivt og differentielt medium. Det er kun let selektivt, da koncentrationen af galdesalte, som hæmmer grampositive mikroorganismer, er lav i sammenligning med andre enteriske plademedier. Krystalviolet inkluderes også i mediet for at hæmme vækst af grampositive bakterier, specielt enterokokker og stafylokokker.

Differentiering af enteriske mikroorganismer opnås ved kombinationen af laktose og den neutralt røde indikator. Farveløse eller lyserøde til røde kolonier produceres, afhængigt af isolatets evne til at fermentere kulhydratet.

De fleste stammer (96–97 %) af *E. coli* producerer et enzym, β-D-glukuronidase.³ Enzymet hydrolyserer MUG til at afgive 4-methylumbelliferon, en forbindelse, der fluorescerer under ultraviolet lys med langbølglængde (366 nm). Tilsætningen af MUG til formuleringen tillader β-D-glukuronidase-positive stammer af *E. coli* at fluorescere blå-grønt, når de undersøges under ultraviolet lys.

VII REAGENSER

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

Omtrentlig formel* pr. liter oprenset vand

Pankreatisk fordøjelse af kasein.....	14,5 g	Agar.....	14,0 g
Papain-fordøjelse af sojabønnealtid.....	5,0 g	Vækstfaktorer.....	1,5 g
Natriumchlorid.....	5,0 g	Defibrineret fåreblod.....	5%

*Justeret og/eller suppleret som påkrævet for at opfylde funktionskriterier.

BD BBL MacConkey II Agar with MUG

Omtrentlig formel* pr. liter oprenset vand

Pankreatisk fordøjelse af gelatine.....	17,0 g	Natriumchlorid.....	5,0 g
Pankreatisk fordøjelse af kasein.....	1,5 g	Neutral rød.....	0,03 g
Peptisk fordøjelse af animalsk væv.....	1,5 g	Krystalviolet.....	0,001 g
Laktose.....	10,0 g	MUG (4-methylumbelliferyl-β-D-glukuronid).....	0,1 g
Galdesalte.....	1,5 g	Agar.....	13,5 g

*Justeret og/eller suppleret som påkrævet for at opfylde 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, herunder hepatitisvira og humant immundefekt virus, kan forekomme i kliniske prøver.

"Standardforholdsregler"⁴⁻⁷ og institutionelle retningslinier skal overholdes ved håndtering af alle emner, der er kontamineret med blod og andre legemsvæsker. Efter brug skal præparerede plader, prøvebeholdere og andre kontaminede 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 skal opbevares i deres originale omslag ved 2 til 8 °C indtil lige inden anvendelse. Kan inokuleres op til udløbsdatoen, og inkuberes i den anbefalede inkubationstid. 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

Præparater, der er egnet til dyrkning, kan håndteres med forskellige teknikker. Læs relevante tekster for at få detaljerede oplysninger.^{8,9} Præparaterne skal være opsamlet, inden der indgives antimikrobielle stoffer. Sørg for prompte levering til laboratoriet.

IX PROCEDURE

Vedlagte materialer

BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II) og **BD BBL MacConkey II Agar with MUG (BD I Plate)**

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpedyrkningsmedier, reagenser, kvalitetskontrolorganismer og laboratorieudstyr som påkrævet.

Testprocedure

Anvend aseptiske teknikker.

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

Udstryk 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.

Inkubér pladerne, der er beskyttet mod lys, ved $35 \pm 2^\circ\text{C}$ i 18 til 24 h. Ved præparater fra luftvejene inkuberes i en aerob atmosfære suppleret med kuldioxid. Ved andre præparater inkuberes aerobt *uden* tilsat CO_2 .

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 inkubation vil de fleste plader vise et område med sammenflydende vækst. Da udstrykningsproceduren i realiteten er en "fortyndings" teknik, deponeres et aftagende antal mikroorganismer på de områder, hvor udstrykningen er sket. Som følge heraf bør et eller flere af disse områder udvise isolerede kolonier af organismene indeholdt i præparatet. Yderligere kan vækst af hver organisme scores semikvantitativt på basis af vækst i hvert af de udstrøgne områder.

Typiske resultater på **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood** er som følger:

1. Hæmolytiske streptokokker kan forekomme som gennemsigtige eller uigennemsigtige, grålige, små (1 mm), eller store matte og slimagtige (2 til 4 mm) kolonier, omgivet af en hæmolysezone. Gramfarvninger skal laves og undersøges for at kontrollere de makroskopiske fund. (Andre organismer, som kan give hæmolyse, omfatter *Listeria*, forskellige korynebakterier, hæmolytiske stafylokokker, *Escherichia coli* og *Pseudomonas*.) Ved rapportering kan omtrentlig kvantitetsbestemmelse af antallet af kolonier af hæmolytiske streptokokker være nyttigt for klinikeren.
2. Pneumokokker forekommer normalt som meget flade, glatte, gennemsigtige, grålige og sommetider slimagtige kolonier, omgivet af en snæver zone af "grøn" (alpha) hæmolyse.
3. Stafylokokker forekommer som uigennemsigtige hvide til guldgule kolonier med eller uden zoner af betahæmolyse.
4. *Listeria*. Der produceres små zoner af betahæmolyse. De kan kendes på deres stavform i farvninger og på bevægelighed ved stuetemperatur.
5. Andre organismer, der repræsenterer minimal flora og klinisk signifikante isolater, kan også forventes at vokse på denne nonselektive formulering.

Typisk kolonimorfologi på **BD BBL MacConkey II Agar with MUG** er som følger:

Kolonier af laktosefermenterende bakterier forekommer lyserøde til rosenrøde og kan være omgivet af en zone af galdeudfældning, hvorimod kolonier, der ikke fermenter laktose, er farveløse. Undersøg mediet under ultraviolet langbølget lys (366 nm). β -D-glukuronidase-positive kolonier har blågrøn fluorescens; β -D-glukuronidase-negative kolonier fluorescerer ikke.

XI PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Det er rapporteret, at nogle *Enterobacteriaceae* og *Pseudomonas aeruginosa* hæmmes på **BD BBL MacConkey Agar**, når de inkuberes i en CO_2 -beriget atmosfære.¹⁰

Ikke alle *E. coli* stammer fermenter laktose eller producerer β -D-glukuronidase. Visse *Salmonella* og *Shigella* stammer producerer β -D-glukuronidase og vil fluorescere.¹¹ En lille procentdel af *Yersinia* og streptokokker er blevet rapporteret at have fluoresceret.¹²

For at organismene skal kunne identificeres, skal de være i ren kultur. Der bør udføres morfologiske, biokemiske og/eller serologiske tests for at få en endelig identifikation. Læs de relevante tekster for detaljerede oplysninger og anbefalede procedurer.^{8,9,13}

XII FUNKTIONSDATA

BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood

BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood blev brugt som en kontrol i en undersøgelse, der anvendte bouillon-forbedret kultur (Todd og Hewitt) og optisk immunanalysemetode til diagnosticering af beta-hæmolytisk streptokokinfektion. Femhundrede og to (502) præparater blev testet. TSA with 5% Sheep Blood havde en følsomhed og specificitet på henholdsvis 92,5 % og 99,4 %.¹⁴ Nguyen et al. anvendte **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood** som 'den gyldne standard' til påvisningen af gruppe *B Streptococcus* fra de nedre kønsdele hos gravide kvinder.¹⁵ I en anden undersøgelse genisolerede Rossmann et al. med succes *Lautropia mirabilis* på **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood** fra mundhulen på børn, der er inficeret med HIV virus.¹⁶ Af de 85 børn, der blev evalueret i denne undersøgelse, var 35 (41,4 %) positive for *L. mirabilis*. Isenberg et al. anvendte **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood** som en kontrol for at evaluere isoleringen af *Enterococcus* fra et selektivt medium under undersøgelse.¹⁷ Der blev anvendt to hundrede og halvtres (250) gruppe D streptokokstammer isoleret fra klinisk materiale og 8 stammer taget fra National Communicable Disease Center (Atlanta, Ga.).

BD BBL MacConkey II Agar with MUG

I en klinisk undersøgelse, der blev foretaget på et universitetshospital, blev MUG inkorporeret i **BD BBL MacConkey II Agar** for at påvise tilstedeværelsen af β -glukuronidase. Det blev fundet, at den tid, der skulle til for at identificere *E. coli* stammer, blev reduceret fra en time til fem minutter, og evnen til at identificere denne organisme i blandede prøver blev forbedret.¹

XIII BESTILLING

Kat. nr. Beskrivelse

221949 **BD BBL Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)** og **BD BBL MacConkey II Agar with MUG-BD I Plate**

XIV LITTERATUR

1. Trepeta, R.W., and S.C. Edberg. 1984. Methylumbelliferyl- β -D-glucuronide-based medium for rapid isolation and identification of *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 19:172-174.
2. Vera, H.D., and D.A. Power. 1980. Culture media, p. 969. In E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Killian, M., and P. Bulow. 1976. Rapid diagnosis of *Enterobacteriaceae*. I Detection of bacterial glycosidases. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B, 84:245-251.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO₂ vs. ambient incubation, abstr. C 179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.
11. Feng, P.C.S., and P.A. Hartman. 1982. Fluorogenic assays for immediate confirmation of *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol. 43:1320-1329.
12. Robison, B.J. 1984. Evaluation of a fluorogenic assay for detection of *Escherichia coli* in foods. Appl. Environ. Microbiol. 48:285-288.
13. 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.
14. Fries, S.M. 1995. Diagnosis of group A streptococcal pharyngitis in a private clinic: comparative evaluation of an optical immunoassay method and culture. J. Pediatr. 126:933-936.
15. 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. 7:172-176.
16. 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.
17. Isenberg, H.D., D. Goldberg, and J. Sampson, 1970. Laboratory studies with a selective medium. Appl. Microbiol. 20: 433-436.

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.