

## **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood**

### **NAMJENA**

**BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (Sojin agar Trypticase II s 5% ovčje krvi)** hranjiva je podloga za općenite namjene za izolaciju i uzgoj nezahtjevnih i zahtjevnih mikroorganizama iz različitih kliničkih uzoraka, kao i za otkrivanje hemolitičkih reakcija.

### **NAČELA I OBJAŠNENJE POSTUPKA**

Mikrobiološka metoda.

Zahvaljujući svom hranidbenom sastavu **Triptoza** sojin agar (TSA) postao je popularna podloga, kako bez dodataka, tako i kao baza za podloge koje sadrže krv.<sup>1</sup> **BD Trypticase Soy Agar II** poboljšana je verzija koja pruža čišće hemolitičke zone od **Triptoza** sojinog agara (TSA) s dodatkom 5% ovčje krvi. On omogućuje odličan rast i beta hemolizu hemolitičkih streptokoka i drugih organizama.<sup>2-4</sup> Prikladan je za izvođenje ispitivanja CAMP (stvaranje zone potpune, sinergističke hemolize na spoju okomitog razmaza inokuluma *Staphylococcus aureus* i grupe streptokoka B) za vjerojatnu identifikaciju *Streptococcus agalactiae* i za upotrebu s diskovima s malom koncentracijom (0,04 jedinica) bacitracina (diskovi **BD Taxo A**) za vjerojatnu identifikaciju streptokoka grupe A (*S. pyogenes*).<sup>2,3,5,6</sup>

**BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood** nije prikladna podloga za primarnu izolaciju zahtjevnih anaeroba.

Kombinacija kazeina i sojinih peptona u sojinom agaru Trypticase (TSA II) čini podlogu vrlo hranjivom opskrbljujući je organskim dušikom, osobito aminokiselinama i peptidima dugih lanaca. Natrijev klorid održava osmotsku ravnotežu. Faktori rasta podloge poboljšavaju hemolitičke reakcije. Defibrinirana ovčja krv je krv koja se najviše koristi za obogaćivanje podloga agarnih baza.<sup>1</sup>

### **REAGENSI**

#### **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood**

Formula\* po litri pročišćene vode

Pankreatična digestija kazeina	14,5 g
Papaična digestija obroka od soje	5,0
Natrijev klorid	5,0
Faktori rasta	1,5
Agar	14,0
Defibrinirana ovčja krv	5%
pH 7,3 +/- 0,2	

\*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

### **MJERE OPREZA**

**IVD** . Samo za profesionalnu primjenu. 

Ne upotrebljavajte pločice ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikrobima, promjena boje, sušenje, pucanje ili ostali znakovi pogoršanja kvalitete.

Pogledajte dokument **OPĆE UPUTE ZA UPOTREBU** o postupcima aseptičnog rukovanja, biološkim opasnostima i odlaganju iskorištenog proizvoda.

### **ČUVANJE I ROK VALJANOSTI**

Po primitku pohranite pločice na tamnom mjestu pri temperaturi od 2 – 8°C u originalnom pakiranju do trenutka upotrebe. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Pločice se mogu inokulirati do datuma isteka valjanosti (pogledajte naljepnicu na pakiranju) te inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije.

Pločice iz otvorenih pakiranja po 10 pločica mogu se koristiti tjedan dana ako se čuvaju na čistom mjestu pri temperaturi od 2 – 8°C.

## KORISNIČKA KONTROLA KVALITETE

Inokulirajte reprezentativne uzorke sa sljedećim sojevima (detalje potražite u dokumentu **OPĆE UPUTE ZA UPOTREBU**). Inkubirajte inokulirane pločice na  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  u aerobnoj atmosferi kojoj je dodan ugljikov dioksid. Nakon 18 – 24 h na pločicama pregledajte stupanj rasta, veličinu kolonija i hemolitičke reakcije.

Sojevi	Rezultati rasta
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Dobar do odličan rast; može biti beta hemolitički
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Dobar do odličan rast
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Dobar do odličan rast
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Dobar do odličan rast; beta hemoliza
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 12386	Dobar do odličan rast; (slaba) beta hemoliza
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Dobar do odličan rast, zelenosive kolonije, alfa hemoliza
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Dobar do odličan rast; beta hemoliza
Nije inokulirano	Crvena (boja krvi)

## POSTUPAK

### Priloženi materijal

**BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood** (pločice **Stacker** od 90 mm). Mikrobiološki kontrolirano.

### Materijal koji nije priložen

Podloge za dodatne kulture, reagensi i laboratorijska oprema prema potrebi.

### Vrste uzoraka

Ovo je univerzalna podloga za aerobnu bakteriološku izolaciju i može se koristiti za sve vrste kliničkih uzoraka (pogledajte također **KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA POSTUPKA**).

### Postupak ispitivanja

Razmažite uzorak odmah po primitku u laboratorij. Pločica s razmazom primarno se koristi za izolaciju čistih kultura iz uzoraka koji sadrže miješanu floru.

Drugi način je, u slučaju da se kultura nanosi na materijal izravno štapićem, da štapić protrljate po malom dijelu površine na rubu, a zatim razmažete iz tog inokuliranog dijela. Kako bi se poboljšalo otkrivanje svih patogenih organizama u uzorku, mora se razmazati na odgovarajuću selektivnu podlogu.<sup>1,4</sup>

Budući da je mnogim patogenim organizmima potreban ugljični dioksid za primarnu izolaciju, pločice se moraju inkubirati u aerobnoj atmosferi koja sadrži otprilike 3 – 10% CO<sub>2</sub>. Inkubirajte pločice na temperaturi od 35 – 37°C tijekom 18 – 24 sata ili dulje, ako je potrebno.

**Test CAMP:** Izolati kod kojih se sumnja na *Streptococcus agalactiae* mogu se za vjerojatnu identifikaciju ispitati testom CAMP. Inokulum se može izvaditi s pločice s krvnim agarom. Napravite jedan razmaz bakterije *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 na sredini pločice. Ako koristite pipetu, nemojte ju koristiti paralelno s površinom agara jer će razmaz biti preširok pa rezultati neće biti zadovoljavajući. Sojevi streptokoka za ispitivanje inokuliraju se jednim razmazom okomito na liniju *S. aureus* što je bliže moguće (2 – 3 mm), ali da ju ne dodiruje. Više izolata može se ispitati na istoj pločici. Okomiti razmazi streptokoka moraju biti razdvojeni 5 – 8 mm. Preporučuje se da se s izolatima pacijenta uključi *S. agalactiae* ATCC 12386 kako bi se provjerilo je li učinkovitost zadovoljavajuća, kao i *S. pyogenes* ATCC 19615 za negativnu kontrolu. Postupak se mora napraviti s poznatim kulturama prije upotrebe za identifikaciju nepoznatih izolata.

Napomena: Studije testa CAMP pokazale su da je reakcija nekih serija pripremljenih pločastih podloga najpouzdanija na početku roka valjanosti.

Za test CAMP inkubirajte pločice u aerobnoj atmosferi na temperaturi od  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  tijekom 18 –24 h. Nemojte inkubirati anaerobno ili u inkubatoru s  $\text{CO}_2$  jer to može uzrokovati lažno pozitivne rezultate s grupom streptokoka A.<sup>2,3,5,6</sup>

### Rezultati

Nakon inkubacije na većini pločica bit će vidljivo područje s rastom koji se slijeva u jednu točku. Budući da je postupak razmazivanja u stvari tehnika „razrjeđivanja“, manji broj mikroorganizama nanosi se na područja razmaza. Zbog toga bi na jednom ili više ovih područja morale biti vidljive izolirane kolonije organizama iz uzorka. Nadalje, rast svakog organizma može se ocjenjivati polukvantitativno na osnovi rasta na svakom području razmaza. Potrebna je daljnja diferencijacija izoliranih organizama biokemijskim i/ili serološkim ispitivanjima. Pogledajte odgovarajuće reference za informacije o izgledu i daljnjim diferencijalnim ispitivanjima izoliranih organizama.<sup>2,3,7,8</sup>

**Test CAMP:** Pozitivna reakcija CAMP vidljiva je pojavom područja u obliku strelice ili trokuta koja predstavljaju veću hemolizu koja se stvara oko kraja linije razmaza streptokoka koja je najbliža rastu *S. aureus*. Rast streptokoka mora biti unutar šire zone djelomične hemolize koja okružuje rast *S. aureus*. Izolati na kojima je vidljivo opisano područje hemolize u obliku strelice mogu se vjerojatno identificirati kao *Streptococcus agalactiae*, ali se grupa streptokoka B Lancefield mora potvrditi dodatnim imunološkim ili serološkim postupcima. Negativna reakcija može se pojaviti kao područje blago povećane hemolize u obliku metka ili bez povećane hemolize.

### KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA POSTUPKA

**BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood** standardna je podloga za izolaciju i uzgoj mnogih mikroorganizama koji rastu aerobno, kao što su *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* i drugi nefermentirajuće gram negativne bakterije, streptokoki, stafilokoki, korineoblici, vrste *Candida* i mnogi drugi.<sup>1,4</sup>

Ovoj podlozi nedostaje faktor V (nikotinamid adenin dinukleotid, NAD) budući da ovčja krv sadrži NADaze koje uništavaju NAD. Zbog toga *Haemophilus influenzae* kojoj su potrebni i faktor X i faktor V neće rasti na ovoj podlozi. *Neisseria gonorrhoeae* ne raste dobro na ovoj podlozi. Umjesto toga, za izolaciju ovih vrsta treba koristiti **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)**.

Ova podloga također nije prikladna za izolaciju i rast bakterija *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* i drugih organizama s vrlo specifičnim hranjivim zahtjevima.

Broj i vrsta bakterijskih vrsta koje se pojavljuju kao infektivni agensi vrlo je velik. Stoga, prije nego što se podloga rutinski upotrebljava za rijetko izolirane ili novoopisane mikroorganizme, njezinu prikladnost korisnik mora prvo ispitati uzgojem čistih kultura na organizmu o kojemu se radi.

Iako se određeni broj dijagnostičkih ispitivanja može napraviti direktno na podlozi, za potpunu identifikaciju preporučuju se biokemijska i, ako je tako navedeno, imunološka ispitivanja s čistom kulturom. Za dodatne informacije pogledajte odgovarajuće reference.<sup>4-7</sup>

Za pojedinosti o upotrebi diskova **BD Taxo** na ovoj podlozi pogledajte odgovarajuće **Upute za upotrebu**.

**BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood** nije prikladna podloga za primarnu izolaciju zahtjevnih anaeroba.

### REFERENCE

1. 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.
2. Facklam, R.R., and J.A. Washington II. 1991. Streptococci and related catalase-negative gram-positive cocci, p. 238-257. *In*: A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D.

- Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Ruoff, K.L., R.A. Whiley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
  4. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
  5. Bernheimer, A.W., R. Linder, and L.S. Avigad. 1979. Nature and mechanism of action of the CAMP protein of group B streptococci. Infect. Immun. 23:838-844.
  6. Darling, C.L. 1975. Standardization and evaluation of CAMP reaction for prompt, presumptive identification of *Streptococcus agalactiae* (Lancefield group B) in clinical material. J. Clin. Microbiol. 1:171-174.
  7. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, Clinical microbiology procedures handbook, vol.1, p. 1.6.1-1.6.7. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
  8. Baron, E. J, L. R. Peterson, and S. M. Tenenbaum. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed., p. 415. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.

## PAKIRANJE/DOSTUPNOST

### Sojin agar BD Trypticase II s 5% ovčje krvi

Kat. br. 254053 Pločaste podloge spremne za upotrebu, 20 pločica  
Kat. br. 254087 Pločaste podloge spremne za upotrebu, 120 pločica

## DODATNE INFORMACIJE

Dodatne informacije zatražite od lokalnog predstavnika tvrtke BD.



### Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12  
D-69126 Heidelberg/Germany  
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16  
Reception\_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>  
<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection  
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD