

BD Tetrathionate Broth Base • BD Iodine Solution (für Tetrathionate Broth Base)

VERWENDUNGSZWECK

BD Tetrathionate Broth Base (BD Tetrathionat-Bouillon-Basis), wird nach Komplettierung mit **BD Iodine Solution** (Jod-Kaliumjodid-Lösung), als selektives Anreicherungsmedium für *Salmonella*-Spezies aus Stuhlproben vom Menschen und einer Vielzahl von Nahrungsmitteln verwendet. Das fertige Medium ist auch als TT Bouillon bekannt.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Salmonella-Spezies verursachen viele Arten von Infektionen, von schwacher, selbstbegrenzender Gastroenteritis bis zu lebensbedrohendem Typhusfieber.¹ Die gewöhnlichste Form einer *Salmonella*-Erkrankung ist selbstbegrenzte Gastroenteritis mit Fieber, welches weniger als zwei Tage dauert, und Diarrhö, welche weniger als 7 Tage anhält.¹ Mueller hat die Wirksamkeit von Tetrathionat-Bouillon zur Anreicherung von typhoiden und paratyphoiden Bazillen aufgezeigt, während koliforme Organismen gehemmt werden.² Mit der Verwendung einer modifizierten Mueller-Bouillon konnte Kaufmann die Anzahl positiver Isolate erhöhen.^{3,4} Tetrathionat-Bouillon wurde in Studien für die Geflügelindustrie und in einer Gemeinschaftsstudie zum Schnellscreening von *Salmonella* in Nahrungsmitteln eingesetzt.⁵⁻⁷ Tetrathionat-Bouillon ist in den Standardverfahren für *Salmonella*-Untersuchungen aufgeführt und wird zur Analyse von Fäkalkulturen auf Bakterien verwendet.⁸⁻¹⁵

Tetrathionat-Bouillon-Basis, mit Jod-Kaliumjodid-Lösung ergänzt, wird als selektive Anreicherung für die Kultivierung von *Salmonella*-Spezies verwendet, welche in kleinen Anzahlen vorhanden sein und mit der Darmflora konkurrieren könnte. Aus diesem Grund können sie unter Umständen in einer primären Plattenkultur der Probe auf festen, selektiven Differenzierungsmedien nicht nachgewiesen werden.

In **BD Tetrathionat Broth Base** liefert Proteose-Pepton Stickstoff, Kohlenstoff, Vitamine und Aminosäuren. Die Selektivität wird durch die Kombination von Natriumthiosulfat und Tetrathionat erreicht, welche kommensale intestinale Organismen unterdrücken.¹⁶ (Tetrathionat wird nach der Zugabe von dem in **BD Iodine Solution** enthaltenen Jod und Kaliumjodid im Medium gebildet.) Organismen, die das Enzym Tetrathionat-Reduktase enthalten, vermehren sich stark in diesem Medium.¹⁷ Gallensalze, ein selektives Agens, unterdrücken koliforme Bakterien und hemmen grampositive Organismen. Calciumcarbonat neutralisiert und absorbiert toxische Metaboliten und sorgt für einen stabilen pH-Wert.

REAGENZIEN

Zusammensetzungen* pro Liter destilliertem Wasser

BD Tetrathionate Broth Base		BD Iodine Solution	
Bacto Proteose-Pepton	5,0 g	Jod	300,0 g
Bacto Gallensalze	1,0	Kaliumjodid	250,0
Natriumthiosulfat	30,0	Erscheinungsbild: Rötlich-braun	
Calciumcarbonat	10,0		
pH 8,4 ± 0,2			
Erscheinungsbild: Praktisch farblos bis leicht gelblich, mit starken weißen Präzipitaten			
Erscheinungsbild nach der Supplementierung mit J-KJ-Lösung: Bräunlich; starke Präzipitaten			

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

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch.

Glasfläschchen oder Flaschen bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Eintrocknen, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden. Zu Ergänzung von **BD Tetrathionate Broth Base** sind die unter **Vorbereitung der Reagenzien** beschriebenen Verfahren anzuwenden.

Hinweise zu Verfahren aseptischer Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des gebrauchten Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

Warnung: BD Iodine Solution (für Tetrathionat-Bouillon-Basis): Gefahrenbestimmende Komponente/n zur Etikettierung: Jod



Xn Gesundheitsschädlich

R-Sätze:

20/21 Schädlich bei Inhalation und Hautkontakt

S-Sätze:

9 Behälter in gut belüfteten Bereichen aufbewahren.

23 Rauch/Dämpfe nicht einatmen.

25 Kontakt mit den Augen vermeiden.

36/37 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung und Handschuhe tragen.



N Umweltgefährdend

R-Sätze:

50 Sehr toxisch für Organismen in Gewässern.

S-Sätze:

57 Um Umweltverschmutzung zu verhindern, sind geeignete Behälter zu verwenden.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Fläschchen mit **BD Tetrathionate Broth Base** nach Erhalt bis kurz vor der Anwendung im Dunkeln bei 5 – 25 °C aufbewahren. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Fläschchen können bis zum Verfallsdatum inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden. Fläschchen aus geöffneten Packungen können bis zum Verfallsdatum verwendet werden. Geöffnete Fläschchen sofort verwenden.

BD Iodine Solution bei 15 – 22 °C im Dunkeln aufbewahren; nicht im Kühlschrank lagern.

Flasche gut verschliessen. Flaschen aus geöffneten Packungen können bis zum Verfallsdatum verwendet werden. Geöffnete Flaschen können bis zum Verfalldatum wiederholt verwendet werden, wenn sie nach jeder Verwendung wieder verschlossen und korrekt aufbewahrt werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

BD Tetrathionate Broth Base vor der Verwendung mit **BD Iodine Solution** ergänzen (für Einzelheiten, siehe **Verfahren – Vorbereitung der Reagenzien**). Die Fläschchen mit 10 – 100 KBE der *Salmonella*-Stämme pro Fläschchen inokulieren. Für die übrigen Stämme 10⁴ – 10⁵ KBE verwenden. 18 – 24 h bei 35 ± 2°C inkubieren. Nach der Inkubation 10 – 20 µL auf **BD MacConkey II Agar**-Platten subkultivieren; Platten 18 – 24 h bei 35 ± 2 °C inkubieren und Wachstum notieren.

Stämme	Wachstum	Wachstum der Subkultur auf BD MacConkey II Agar
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	Gutes bis sehr gutes Wachstum	Gutes bis sehr gutes Wachstum
<i>Salmonella</i> Abony DSM 4224	Gutes bis sehr gutes Wachstum	Gutes bis sehr gutes Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Schwaches bis gutes Wachstum	Teilweise gehemmtes Wachstum
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Schwaches oder kein Wachstum	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Schwaches oder kein Wachstum	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Tetrathionate Broth Base, 12 mL, erhältlich in 30 mL Fläschchen mit Schraubverschluss
Mikrobiologisch kontrolliert.

BD Iodine Solution (für Tetrathionat-Bouillon-Basis), 40 mL, erhältlich in 50 mL Flaschen mit Schraubverschluss.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Vorbereitung der Reagenzien

Um **BD Tetrathionate Broth Base** zu vervollständigen, 2 % (oder 0,24 mL) **BD Iodine Solution (für Tetrathionat-Bouillon-Basis)** pro Fläschchen (12,0 ml) zugeben. Nach der Vervollständigung Röhrchen schließen und vorsichtig mischen. Nicht Erhitzen! Es wird darauf hingewiesen, dass sich das weiße Sediment (Calciumcarbonat) auch nach der Vervollständigung nicht auflöst. Fertiges Medium innerhalb von 2 h nach dem Zusatz der J-KJ-Lösung inokulieren!

Probenarten

Die fertige Tetrathionat-Bouillon wird als Anreicherungsbouillon für *Salmonella* aus einer Vielzahl von Nahrungsmitteln, sowie aus menschlichen Stuhlproben verwendet (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

Testverfahren

Von festen Proben 1,0 – 3,0 g oder von flüssigen Proben 1,0 – 3,0 mL pro Röhrchen fertiger Tetrathionat-Bouillon zugeben. Während der akuten Phase einer Infektion können auch kleinere Stuhlmengen verwendet werden. Vorsichtig mischen und 12 – 24 h bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren. Nahrungsmittel mit hohen Anzahlen von Kontaminanten werden bei $43 \pm 0,2$ °C im Wasserbad inkubieren. Eine vollständige Erörterung der für Nahrungsmittel geeigneten Verfahren ist der entsprechenden Fachliteratur zu entnehmen.⁸⁻¹² Es wird darauf hingewiesen, dass Stuhlproben auch direkt (ohne vorangehende Anreicherung) auf die geeigneten Plattenmedien ausgestrichen werden sollten.^{1,14,15}

Ergebnisse

Nach der Inkubation Tetrathionat-Medium auf geeignete selektive Differenzierungsmedien subkultivieren, z.B. **BD XLD Agar** oder **BD Hektoen Enteric Agar** sowie auf **BD McConkey II Agar**. Die Literaturhinweise sind zu beachten.^{1,11-15}

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Tetrathionate Broth Base ist nach Supplementierung mit **BD Iodine Solution** ein Standard-Medium, welches zur Anreicherung von *Salmonella*-Spezies aus Nahrungsmitteln und menschlichen Stuhlproben verwendet wird.^{1,8-15} Tetrathionat-Bouillon und das Rappaport-Vassiliadis-Medium haben sich als die empfindlichsten Medien für Nahrungsmittel mit niedrigen *Salmonella*-Zahlen erwiesen.¹⁸

Da die Nährstoffanforderungen von Organismen unterschiedlich sind, kann es *Salmonella*-Stämme geben, die in diesem Medium kein Wachstum oder nur schwaches Wachstum zeigen.

Die Isolierungstechniken sollten immer verschiedene Anreicherungsbouillons und Isolierungsmedien umfassen. Die Literaturhinweise sind zu beachten.^{1,14,15}

Für die auf diesem Medium erhaltenen Isolate sind noch weitere biochemische und serologische Tests notwendig, um eine vollständige Identifizierung zu ermöglichen.^{1,14,15}

LITERATUR

1. Bopp, C.A., Brenner, F.W., Fields, P.I., Wells, J.G., and N.A. Strockbine. 2003. Escherichia, Shigella, and Salmonella. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

2. Muller, L. 1923. Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. C. R. Soc. Biol. 89:434. Paris.
3. Kauffmann, F. 1930. Ein kombiniertes Anreicherungsverfahren für Typhus- und Paratyphusbacillen. Zentralb. Bakteriol. Parasitenkde. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig. 113:148.
4. Kauffmann, F. 1935. Weitere Erfahrungen mit den kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonellabacillen. Z. Hyg. Infektionskr. 117:26.
5. Jones, F. T., R. C. Axtell, D. V. Rives, S. E. Scheideler, F. R. Tarver, Jr., R. L. Walker, and M. J. Wineland. 1991. A survey of Salmonella contamination in modern broiler production. J. Food Prot. 54:502-507.
6. Barnhart, H. M., D. W. Dressen, R. Bastien, and O. C. Pancorbo. 1991. Prevalence of Salmonella enteritidis and other serovars in ovaries of layer hens at time of slaughter. J. Food Prot. 54:488-492.
7. Eckner, K. F., W. A. Dustman, M. S. Curiale, R. S. Flowers, and B. J. Robison. 1994. Elevated-temperature, colorimetric, monoclonal, enzyme-linked immunosorbent assay for rapid screening of Salmonella in foods: collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 77:374-383.
8. Andrews, W. H., G. A. June, P. S. Sherrod, T. S. Hammack, and R. M. Amaguana. 1995. Salmonella, p 5.01-5.20. In Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International. Gaithersburg, MD.
9. Russell, S. F., J.-Y. D'Aoust, W. H. Andrews, and J. S. Bailey. 1992. Salmonella, p.371-422. In Vanderzant, C. and D. F. Splittstoesser (ed.). Compendium of methods for the microbiological examination of food, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
10. Flowers, R. S., W. Andrews, C. W. Donnelly, and E. Koenig. 1993. Pathogens in milk and milk products, p. 103-212. In R. T. Marshall (ed.) Standard methods for the examination of dairy products. 16th ed., American Public Health Association, Washington, D.C.
11. United States Pharmacopeial Convention. 1995. The United States Pharmacopeia, 23rd ed. The United States Pharmacopeial Convention. Rockville, MD.
12. Federal Register. 1991. Animal and plant health inspection service: chicken affected by Salmonella enteritidis, final rule. Fed. Regist. 56:3730-3743.
13. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, p. 751-754, Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
14. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1, American Society for Microbiology, Washington, D. C.
15. Kist, M. et al. 2000. Infektionen des Darmes. In: Mauch, H., R. Lüttiken, and S. Gatermann (ed.). MIQ – Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Vol 9. Urban und Fischer, München, Jena.
16. Knox, R., P. H. Gell, and M. R. Pollack. 1942. Selective media for organisms of the Salmonella group. J. Pathol. Bacteriol. 54:469-483.
17. Hinsley, A.P., and B.C. Berks. 2002. Specificity of respiratory pathways involved in the reduction of sulfur compounds by Salmonella enterica. Microbiology 148: 3631-3638.
18. Hammack, T.S., et al. 1999. Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth, and Rappaport-Vassiliadis medium for the recovery of Salmonella spp. from foods with a low microbial load. J. Food Prot. 62: 16-21.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Tetrathionate Broth Base (halbfertiges Flaschenmedium)

Best.-Nr. 257103 50 Fläschchen 12 mL Füllmenge; in 30 mL Fläschchen mit Schraubverschluss

BD Iodine Solution (für Tetrathionate Broth Base) (Supplement)

Best.-Nr. 257199 1 Flasche 40 mL Füllmenge; in 50 mL Flasche mit Schraubverschluss

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



BD Diagnostic Systems

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

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
Bacto is a trademark of Difco Laboratories, division of Becton, Dickinson and Company.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
© 2003 Becton, Dickinson and Company