

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Tetrathionate Broth Base (Tetrathionat-Bouillon-Basis), mit Jod-Kaliumjodid-Lösung ergänzt, dient als selektives Anreicherungsmedium für die Isolierung von *Salmonella* aus Kot, Urin, Nahrungsmitteln und sonstigen Substanzen von hygienischer Bedeutung.

II TESTDURCHFÜHRUNG

1. Vor der Inokulation 0,2 mL Kaliumjodidlösung je 10 mL Medium hinzugeben, hergestellt durch Hinzugabe von 6,0 g Jodkristallen und 5,0 g Kaliumjod in 20,0 mL steriles destilliertes Wasser.
2. Repräsentative Proben mit 0,1 mL einer 0,5 McFarland-Suspension von den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
3. Subkultur auf einem **BBL Trypticase** Soja-Agar mit 5 % Schafblut zum Zeitpunkt 0 sowie nach 18 – 24 h der Inkubation bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ unter aeroben Bedingungen anlegen.
4. Subkulturen für 18 – 24 h bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ in einer aeroben Atmosphäre inkubieren und auf Wachstum untersuchen. Platten zum Zeitpunkt 0 gekühlt aufbewahren, um die jeweilige Wachstumserholung mit einer 24 h alten Platte zu vergleichen.
5. Zu erwartende Ergebnisse

Organismen	ATCC	Wachstum auf Trypticase-Soja-Agar mit 5 % Schafblut nach Anlegen einer Subkultur von Tetrathionat-Bouillons	
		Zeitpunkt 0	24 h
* <i>Salmonella enterica</i> Subsp. <i>enterica</i> Serotyp Typhimurium	14028	Mäßiges bis mittleres Wachstum	Mittleres bis starkes Wachstum
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Mäßiges bis mittleres Wachstum	Kein bis leichtes Wachstum

* Empfohlener Organismusstamm für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Röhrchen auf Anzeichen von Verfall überprüfen, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben.
2. Repräsentative Röhrchen sichtprüfen, um sicherzustellen, dass ihre Nutzung nicht durch bereits vorhandene Beschädigungen beeinträchtigt werden kann.
3. Den pH-Wert potentiometrisch bei Raumtemperatur überprüfen, um festzustellen, ob die Spezifikation von $8,4 \pm 0,2$ eingehalten wird.
4. Nicht inokulierte repräsentative Proben bei $20 - 25^\circ\text{C}$ und bei $30 - 35^\circ\text{C}$ inkubieren und nach 7 Tagen im Hinblick auf Kontamination durch Mikroorganismen untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Tetrathionate Broth Base (Tetrathionat-Bouillon-Basis), mit Jod-Kaliumjodid-Lösung ergänzt, dient als selektives Anreicherungsmedium für die Isolierung von *Salmonella* aus Kot, Urin, Nahrungsmitteln und sonstigen Substanzen von hygienischer Bedeutung.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Tetrathionat-Bouillon wurde ursprünglich von Müller beschrieben, der herausfand, dass das Medium Coliforme selektiv hemmt und es somit enterischen Pathogenen ermöglichte, praktisch ungehemmt zu wachsen.¹ Kauffman modifizierte das Medium von Müller und konnte den Prozentsatz an Isolat erhöhen.^{2,3} Die Zusammensetzung des Medium entspricht heute den Spezifikationen der APHA (American Public Health Association), der AOAC International und der FDA (Food and Drug Administration).

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Gallensalze hemmen grampositive Mikroorganismen. Tetrathionat bildet sich im Medium durch Zugabe von Jod-Kaliumjodid-Lösung und hemmt die normale Darmflora von Stuhlproben.⁴

VII REAGENZIEN

Tetrathionat-Bouillon-Basis

Ungefähre Zusammensetzung* pro Liter destilliertes Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein.....	2,5 g	Calciumcarbonat.....	10,0 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	2,5 g	Natriumthiosulfat.....	30,0 g
Gallensalze	1,0 g		

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen: In-vitro-Diagnostikum.

Röhrchen mit fest sitzenden Verschlusskappen sind vorsichtig zu öffnen, um Verletzungen auf Grund von Glasbruch zu vermeiden.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z. B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Gegenständen sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“⁵⁻⁸ sowie die

internen Institutsrichtlinien zu beachten. Vorbereitete Röhrchen, Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien im Autoklav sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung: Röhrchen nach Erhalt bei 2 bis 8 °C im Dunkeln aufbewahren. 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 Kontamination durch Mikroorganismen, Verfärbung, Niederschlag, Verdunstung oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können durch unterschiedliche Methoden gewonnen werden. Die Probenentnahme sollte vor der Verabreichung von Antibiotika erfolgen. Für einen korrekten Transport zum Labor ist zu sorgen. Nähere Informationen sind in der entsprechenden Fachliteratur aufgeführt.⁹⁻¹²

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Tetrathionate Broth Base (Tetrathionat-Bouillon-Basis)

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren: Aseptisch vorgehen.

J-KJ-Lösung durch Zugabe von 6,0 g Jodkristallen und 5,0 g Kaliumjodid zu 20,0 mL sterilem, destilliertem Wasser herstellen. Jedem Röhrchen unmittelbar vor der Inokulation 0,2 mL J-KJ-Lösung hinzufügen. Mit einem Abstrichupfer oder einer Öse voll Probe inokulieren oder, wenn es das Röhrchenvolumen zulässt, Stuhl, eine andere feste oder flüssige Probe (ca. 10 % des Volumens) hinzugeben und gegebenenfalls mit einer Inokulationsnadel emulgieren. Röhrchen 12 bis 24 Stunden bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren.

Qualitätskontrolle durch den Anwender: Siehe „Maßnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Anwendern wird geraten, die relevanten CLSI-Richtlinien und CLIA-Vorschriften über geeignete Maßnahmen zur Qualitätskontrolle einzusehen.

X ERGEBNISSE

Subkultur zur weiteren Untersuchung auf selektiven und differenzierten enterischen Medien anlegen.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Anreicherungsbouillons sollten nicht als einziges Isolationsmedium verwendet werden. Sie müssen zusammen mit selektiven und nicht selektiven Plattenmedien verwendet werden, um die Wahrscheinlichkeit einer Isolation von Pathogenen zu erhöhen, besonders, wenn diese nur in geringer Zahl in einer Probe vorhanden sind. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{10,12,13-17}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von Tetrathionat-Bouillon-Basis auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Eine 2%ige Kaliumjodidlösung wird jedem Röhrchen hinzugefügt. Die Röhrchen werden mit 0,1 mL von 0,5 McFarland *S. typhimurium* ATCC 14028 und *E. coli* ATCC 25922 (die Organismen werden 4 h lang auf **Trypticase** Soja-Bouillon kultiviert und vor der Inokulation 100fach verdünnt) inokuliert. Dann wird auf **Trypticase** Soja-Agar mit 5 % Schafblut sowohl zu Beginn (Zeitpunkt 0) als auch nach 18- bis 24-stündiger Inkubation bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre eine Subkultur angelegt. Die Platten werden über Nacht in einer aeroben Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubiert und auf Wachstum untersucht. Nach 24 h zeigt die angelegte Subkultur mäßiges bis starkes Wachstum von *S. typhimurium*, wohingegen *E. coli* partiell bis vollständig gehemmt ist.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
------------	--------------

298249	BBL Tetrathionate Broth Base, Packung mit 10 Röhrchen der Größe K, 10 mL
--------	--

XIV LITERATUR

1. Mueller, L. 1923. Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. C.R. Soc. Biol. (Paris), 89:434-437.
2. Kaufmann, F. 1930. Ein kombiniertes Anreicherungsverfahren für Typhus- und Paratyphusbazillen. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig., 113:148-152.
3. Kaufmann, F. 1935. Weitere Erfahrungen mit den kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonellabazillen. Z. Hyg. Infektionskr. 117:26-32.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
6. 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.
7. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

8. 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.
9. Isenberg, H.D., F.D. Schoenkecht, and A. von Graevenitz. 1979. Cumitech 9, Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating ed., S.J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby Company, St. Louis.
11. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1999. Specimen collection, transport, and storage, p. 33-63. 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.
12. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification p. 442-458. 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.
13. Downes and Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
14. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2001. The U.S. pharmacopeia 25/The national formulary 20-2002. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville, Md.
15. Cunniff, P. (ed.). 1995. Official methods of analysis of AOAC International, 16th ed. AOAC International, Arlington, Va.
16. U.S. Food and Drug Administration. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, Md.
17. Bopp, C.A., F.W. Brenner, J.G. Wells, and N.A. Strockbine. 1999. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*, p. 459-474. 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.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, BBL and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD