



BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX)



L007446 • Rev. 10 • April 2015

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Schokoladen-II-Agar ist ein angereichertes Medium zur Kultivierung der *Neisseria*- und *Haemophilus*-Spezies.

II LEISTUNGSTESTVERFAHREN

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Mit einer für 0,01 mL kalibrierten Impfpfeife die Oberfläche des Schrägagars mit einer 1 : 10-Verdünnung von 18 bis 24 h alten Kulturen auf **Trypticase**-Soja-Bouillon inokulieren.
 - b. Die Röhrchen mit locker aufgesetzten Kappen in einer aeroben Atmosphäre unter Zusatz von Kohlendioxid bei 35 ± 2 °C inkubieren.
2. Röhrchen nach 18 – 24 und nach 48 h auf Wachstum überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

Kontrollorganismen (ATCC-Stämme)

**Neisseria gonorrhoeae* (43069) Wachstum
**Haemophilus influenzae* (10211) Wachstum
Neisseria meningitidis (13090) Wachstum
Streptococcus pneumoniae (6305) Wachstum

*Empfohlener Stamm des Mikroorganismus zur Qualitätssicherung durch den Anwender.

HINWEIS: Muss vom Anwender gemäß CLSI M22-A3 überwacht werden.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Röhrchen wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben begutachten.
2. Röhrchen stichprobenweise visuell auf Beschädigungen und Unregelmäßigkeiten überprüfen, um sicherzustellen, dass diese die spätere Nutzung nicht beeinträchtigen können.
3. Nicht inokulierte Röhrchen stichprobenweise bei 20 – 25 °C und bei 30 – 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf Kontamination durch Mikroorganismen überprüfen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Der Schokoladen-II-Schrägagar ist ein verbessertes Medium für qualitative Verfahren zur Kultivierung hochselektiver Mikroorganismen, besonders *Neisseria* und *Haemophilus*-Spezies, von einer Vielzahl klinischer Proben.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Carpenter and Morton beschrieben ein verbessertes Medium zur Isolierung von Gonokokken in 24 h.¹ Die Effizienz dieses Mediums (GC-Agar, ergänzt durch Hämoglobin und Hefekonzentrat) wurde anhand einer Untersuchung von zwölf, zur Isolierung von Gonokokken verwendeten Medien demonstriert.² **BBL** verbesserte das Medium durch Austausch des Hefekonzentrats gegen die **IsoVitaleX**-Anreicherung – einen chemisch definierten, speziell entwickelten Zusatz zur Wachstumsförderung von Gonokokken, der durchaus ein breiteres Anwendungsspektrum aufweist und zur Isolierung anderer Mikroorganismen, wie beispielsweise *Haemophilus*, eingesetzt werden kann.³⁻⁵ Eine sorgfältige Auswahl und Vortests mit den Ausgangsmaterialien haben dazu beigetragen, dass das gebrauchsfertige Schokoladen-II-Medium in Röhrchen sowohl das Wachstum von Gonokokken als auch von *Haemophilus*-Spezies fördert.

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Schokoladen-II-Agar enthält eine verbesserte GC-II-Agar-Basis, Rinderhämoglobin und **IsoVitaleX**-Anreicherung. Die GC-Basis enthält stickstoffhaltige Nährstoffe in Form von Casein und Rindfleischpeptonen, einen Phosphatpuffer zum Erhalt des pH-Werts und Maisstärke zur Neutralisierung der toxischen Fettsäuren, die im Agar vorkommen können. Hämoglobin liefert den X-Faktor (Hämin) für die *Haemophilus*-Spezies. **IsoVitaleX**-Anreicherung ist eine definierte Ergänzung,

die V-Faktor (Nikotinamidadenindinukleotid, NAD) für die *Haemophilus*-Spezies und Vitamine, Aminosäuren, Koenzyme, Dextrose, Eisenionen und andere Faktoren zur Wachstumsförderung pathogener *Neisseria* liefert.

VII REAGENZIEN

Chocolate II Agar (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX Enrichment)

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	7,5	g
Hochwertiges Fleischpepton	7,5	g
Maisstärke	1,0	g
Dikaliumphosphat	4,0	g
Kaliumdihydrogenphosphat	1,0	g
Natriumchlorid	5,0	g
Agar	12,0	g
Hämoglobin	10,0	g
IsoVitaleX-Anreicherung	10,0	mL

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

IsoVitaleX Enrichment

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser

Vitamin B ₁₂	0,01	g
L-Glutamin	10,0	g
Adenin	1,0	g
Guaninhydrochlorid	0,03	g
p-Aminobenzoesäure	0,013	g
Nikotinamidadenindinukleotid	0,25	g
Thiaminpyrophosphat	0,1	g
Eisen (III)-Nitrat	0,02	g
Thiaminhydrochlorid	0,003	g
L-Cystein-Hydrochlorid	25,9	g
L-Cystin	1,1	g
Dextrose	100,0	g

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

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

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen und Anwendung aseptischer Techniken erfolgen. Präparierte Röhrchen, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Röhrchen nach Erhalt bei 2 – 8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nicht einfrieren oder überhitzen. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. In Röhrchen gemäß Kennzeichnung aufbewahrte Nährmedien können bis zum Verfallsdatum inokuliert und über die empfohlene Zeit inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts

Röhrchen bei Anzeichen von Kontamination durch andere Mikroorganismen, Verfärbung, Eintrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Detaillierte Informationen sind der entsprechenden Fachliteratur zu entnehmen.^{6,7} Die Probenentnahme sollte vor der Verabreichung von Antibiotika erfolgen. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Chocolate II Agar Slants

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Antiseptische Vorsichtsmaßnahmen beachten.

1. Schokoladen-II-Schrägagars dienen primär zur Kultivierung und dem Erhalt von Reinkulturen. Der Schrägagar sollte mit einer Impföse voll Kultur inokuliert werden.
2. Die Kultur schnellstmöglich in eine aerobe, mit Kohlendioxid angereicherte Umgebung bringen.
3. Bei 35 ± 2 °C inkubieren und nach der über Nacht erfolgten Inkubation und erneut nach ca. 48 h überprüfen.

HINWEIS: Zur Identifikation von *N. gonorrhoeae* sollten innerhalb von 18 bis 24 h Subkulturen angelegt werden.

Qualitätssicherung durch den Anwender

Siehe „Qualitätskontrollverfahren“.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

X ERGEBNISSE

Typische Koloniemorphologie auf Schokoladen-II-Agar:

<i>Haemophilus influenzae</i>	Klein (1 mm), feucht, perlenförmig mit charakteristischem „Mausgeruch“
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Klein, gräulich-weiß bis farblos, mukoid
<i>Neisseria meningitidis</i>	Mittel bis groß, blaugrau, mukoid
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Kleine, glänzende, flache Kolonien, die eine grüne Verfärbung des Mediums zeigen

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Schokoladen-II-Agar ist ein angereichertes Medium, auf dem pathogene Bakterien von unerwünschten oder nicht pathogenen Bakterien überwachsen werden können.

Zum Nachweis müssen die Organismen in Reinkultur vorhanden sein. Für die endgültige Identifizierung sollten morphologische, biochemische oder serologische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.⁶⁻⁸

XII LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von Schokoladen-II-Schrägagar (GC-II-Agar mit Hämoglobin und **IsoVitaleX**) auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Repräsentative Proben der Charge werden mit 0,01 mL einer 1 : 10-Verdünnung von 24 h alten Kulturen von *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC 43069), *Neisseria meningitidis* (ATCC 13090) und *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211 auf **Trypticase**-Soja-Bouillon inokuliert. Die Röhrchen werden mit locker aufgesetzten Kappen bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre unter Zusatz von Kohlendioxid inkubiert. Nach einer Inkubation von 18 bis 24 h wird für alle getesteten Organismen ein mäßiges bis starkes Wachstum beobachtet.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. **Beschreibung**

295872 **BD BBL Chocolate II Agar Slants** (GC II Agar with Hemoglobin and **IsoVitaleX**),
Karton mit 10 Röhrchen der Größe K

299452 **BD BBL Chocolate II Agar Slants** (GC II Agar with Hemoglobin and **IsoVitaleX**),
Karton mit 100 Röhrchen der Größe K

XIV LITERATUR

1. Carpenter, C.M., and H.E. Morton. 1947. An improved medium for isolation of the gonococcus in 24 hours. Proc. N.Y. State Assoc. Public Health Labs. 27:58-60.
2. Carpenter, C.M., M.A. Bucca, T.C. Buck, E.P. Casman, C.W. Christensen, E. Crowe, R. Drew, J. Hill, C.E. Lankford, H.E. Morton, L.R. Peizer, C.I. Shaw, and J.D. Thayer. 1949. Evaluation of twelve media for the isolation of the gonococcus. Am. J. Syphil. Gonorrh. Venereal Diseases 33:164-176.
3. Power, D.A. (ed.), and P.J. McCuen. 1988. Manual of **BBL** products and laboratory procedures, 6th ed. Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD.
4. Martin, J.E., T.E. Billings, J.F. Hackney, and J.D. Thayer. 1967. Primary isolation of *N. gonorrhoeae* with a new commercial medium. Public Health Rep. 82:361-363.
5. Vastine, D.W., C.R. Dawson, I. Hoshiwara, C. Yonega, T. Daghfous, and M. Messadi. 1974. Comparison of media for the isolation of Haemophilus species from cases of seasonal conjunctivitis associated with severe endemic trachoma. Appl. Microbiol. 28:688-690.
6. 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.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. 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.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder www.bd.com/ds.



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.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD