



BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine BBL Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine



L007470 • Rev. 10 • Januar 2015

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Die mit Lysin oder Ornithin angereicherte Moeller Decarboxylase Broth-Basis (Decarboxylase-Bouillonbasis nach Moeller) unterstützt die Differenzierung enterischer Bazillen anhand der Decarboxylase-Reaktionen.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Repräsentative Proben mit den im Folgenden aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a) Die Bouillon-Röhrchen leicht inokulieren; hierfür geeichte 0,01-mL-Impfösen mit Wachstum von 18 bis 24 h alten **Trypticase**-Soja-Agar-Schräggkulturen verwenden. Röhrchen mit Moeller Decarboxylase Broth-Basis (Decarboxylase-Bouillonbasis nach Moeller) ohne Aminosäure als Wachstumskontrolle für alle Mikroorganismen mittesten.
 - b) Alle Röhrchen mit 2,0 mL sterilen Mineralöls abdichten.
 - c) Die Röhrchen mit fest angebrachten Kappen bei 35 ± 2 °C inkubieren.
2. Die Röhrchen nach 24, 48, 72 und 96 h im Hinblick auf Reaktionen überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

	Lysin	Ornithin
* <i>Klebsiella pneumoniae</i> Subsp. <i>pneumoniae</i> ATCC 33495	+	–
* <i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	–	+

Hinweis: + = positive Reaktion (alkalisch, purpur oder rot)

– = negative Reaktion (sauer, gelb)

Das Basalmedium ist bei beiden Mikroorganismen negativ.

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für die Qualitätskontrolle durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Röhrchen untersuchen, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben.
2. Repräsentative Röhrchen visuell überprüfen, um sicherzustellen, dass ihre Nutzung nicht durch bereits vorhandene Beschädigungen beeinträchtigt werden kann. Innerhalb einer Charge können geringfügige Farbunterschiede bemerkbar sein. Diese Farbunterschiede wirken sich nicht auf die Leistung aus.
3. Den pH-Wert mit einem Potentiometer bei Raumtemperatur überprüfen, um festzustellen, ob die Spezifikation von $6,0 \pm 0,2$ eingehalten wird.
4. Nicht inokulierte repräsentative Röhrchen bei 20 – 25 °C und bei 30 – 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf Kontamination durch Mikroorganismen untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Decarboxylase-Medien nach Moeller dienen zur biochemischen Differenzierung gramnegativer enterischer Bazillen anhand der Produktion von Lysin und Ornithindecarboxylase.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Im Jahre 1955 präsentierte Moeller die Decarboxylase-Medien für den Nachweis der Lysin- und Ornithindecarboxylase-Produktion.¹ Diese Medien sind nützlich in Verbindung mit anderen biochemischen Tests für die Speziation und Identifizierung von *Enterobacteriaceae* und anderen gramnegativen Bazillen.²⁻⁴ Die Produktion von Ornithindecarboxylase ist besonders hilfreich für die Differenzierung von *Klebsiella*- und *Enterobacter*-Spezies. *Klebsiella*-Spezies sind bewegungsunfähig und – mit Ausnahme von *K. ornithinolytica* – produzieren keine Ornithindecarboxylase, während die meisten *Enterobacter*-Spezies bewegungsfähig sind und – mit Ausnahme von *E. agglomerans* – normalerweise dieses Enzym produzieren.⁴

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Das Decarboxylase-Basalmedium nach Moeller besteht aus Pepton und Rinderextrakt, welche die für das Bakterienwachstum erforderlichen stickstoffhaltigen Nährstoffe liefern. Pyridoxal ist ein enzymatischer Kofaktor für die Aminosäure Decarboxylase. Dextrose ist ein fermentierbares Kohlenhydrat. Bromkresolpurpur und Kresolrot sind pH-Indikatoren. Die Aminosäuren Lysin und Ornithin werden dem Basalmedium zugesetzt, um die Produktion des für diese Substrate spezifischen Enzyms nachzuweisen.

Wenn das Medium mit einem Bakterium inokuliert wird, das Dextrose fermentieren kann, kommt es zur Produktion von Säuren, die den pH-Wert des Mediums senken und zum Farbumschlag des Indikators von purpur zu gelb führen können. Die sauren Bedingungen stimulieren außerdem die Decarboxylase-Aktivität. Wenn der Mikroorganismus das korrekte Enzym produziert, wird die Aminosäure im Medium abgebaut, wodurch ein entsprechendes Amin entsteht. Bei der Decarboxylierung von Lysin entsteht Kadaverin, während bei der Decarboxylierung von Ornithin Putreszin entsteht. Durch die Produktion dieser Amine erhöht sich der pH-Wert des Mediums, sodass es zum Farbumschlag des Indikators von gelb zu purpur oder violett kommt. Produziert der Mikroorganismus nicht das korrekte Enzym, bleibt das Medium sauer (gelb). Weitere Informationen der Fachliteratur entnehmen.⁵

Jedes zu testende Isolat muss außerdem in ein Röhrchen des Basalmediums inokuliert werden, welches die Aminosäure nicht enthält. Falls dieses Röhrchen alkalisch wird, ist der Test ungültig.

Zur Gewährleistung der korrekten Reaktionen müssen die inokulierten Röhrchen durch eine Schicht sterilen Mineralöls luftdicht abgeschlossen werden. Die Einwirkung von Luft kann eine Alkalisierung der Mediumoberfläche bewirken, was zu einem scheinbar positiven Testergebnis für einen decarboxylasenegativen Mikroorganismus führen könnte.

VII REAGENZIEN

Moeller Decarboxylase Broth-Basis

Ungefähre Zusammensetzung* je 1 L destilliertes Wasser

Peptisch abgebautes Tiergewebe	5,0	g
Rindfleischextrakt	5,0	g
Bromkresolpurpur	0,01	g
Kresolrot	0,005	g
Dextrose	0,5	g
Pyridoxal	0,005	g

*Nach Bedarf auf die Leistungskriterien abgestimmt und/oder ergänzt.

Moeller Decarboxylase Broth with Lysine bzw. Ornithine (Decarboxylase-Bouillon nach Moeller mit Lysin bzw. Ornithin) besteht aus Decarboxylase-Bouillonbasis nach Moeller mit 10,0 g/L der spezifizierten Aminosäure.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Röhrchen mit fest angebrachten Kappen sollten vorsichtig geöffnet werden, um Verletzungen durch 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 ihrer Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Die Röhrchen nach Erhalt bei 2 – 8 °C im Dunkeln lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. In den Röhrchen gemäß Kennzeichnung aufbewahrte Medien können bis zum Verfallsdatum inokuliert und für die empfohlene Zeitdauer inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts

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

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Detaillierte Informationen der einschlägigen Fachliteratur entnehmen.^{3,6} Die Proben sollten vor der Anwendung von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Moeller Decarboxylase Broth with Lysine bzw.

Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Aseptisch vorgehen.

Von dem zu testenden Isolat eine Subkultur auf einem geeigneten Medium anlegen (ausstreichen, um isolierte Kolonien zu erhalten) und 18 bis 24 h lang bei 35 ± 2 °C inkubieren.

Zum Inokulieren der Bouillonmedien mit Hilfe einer Impföse oder -nadel eine oder zwei Kolonien von der Oberfläche einer frischen Kultur transferieren und mischen, um die Kultur im gesamten Medium zu verteilen. Das Medium in jedem Röhrchen mit 1 mL sterilem Mineralöl abdichten.

Die Röhrchen mit fest angebrachten Kappen bei 35 ± 2 °C inkubieren. Nach 18 bis 24 h, 48, 72 und 96 h im Hinblick auf Wachstum und Decarboxylase-Reaktionen überprüfen, und ggf. erst dann als negativ berichten. Das Medium wird bei Fermentierung der Dextrose anfänglich gelb und färbt sich anschließend allmählich purpur, falls eine Decarboxylase-Reaktion einsetzt und den pH-Wert erhöht.

Qualitätskontrolle durch den Anwender

Siehe „Maßnahmen zur Qualitätskontrolle“.

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

Eine Einzelelektrode, deren Durchmesser klein genug für die Röhrchen ist, sollte verwendet werden, um den pH-Wert von Medien in Röhrchen potentiometrisch zu ermitteln. Die Elektrodenspitze sollte unter der Oberfläche von Bouillonmedien platziert werden.

X ERGEBNISSE

Die Farbe der Medienröhrchen mit den spezifischen Aminosäuren mit der Farbe der mit demselben Isolat inokulierten Kontrollröhrchen mit Basalmedien (ohne Aminosäure) vergleichen. Zeigen die inokulierten Kontrollröhrchen eine alkalische Reaktion, ist der Test ungültig; d.h. er wurde entweder inkorrekt durchgeführt oder die zu testenden Mikroorganismen können das Pepton hinreichend abbauen, um eine alkalische Reaktion bei Fehlen einer spezifischen Aminosäure zu bewirken.

Bei einer positiven Reaktion färbt sich das Medium purpur bis violett (alkalisch). Bei Gelbfärbung ist der Test negativ; d.h. der Mikroorganismus produziert nicht das korrekte Enzym.

Eventuell benötigte Informationen zur Interpretation der Ergebnisse sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.³⁻⁶

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zur Identifizierung muss der Mikroorganismus in Reinkultur vorliegen. Für die endgültige Identifizierung sind morphologische, biochemische und/oder serologische Tests erforderlich. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{3,4,6,7}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Bei einer von Yabuuchi, Yamanaka und Ohyama durchgeführten Studie zur Entwicklung eines neuen Profilsystems für die Identifizierung von Non-Fermentern in Verbindung mit dem **Minitek**-System wurden Decarboxylase-Medien nach Moeller als Kontrollen verwendet. Es wurden sechshundertundfünfundzwanzig (625) Stämme von Non-Fermentern getestet. Die Übereinstimmung zwischen Moeller Decarboxylase with Lysine (Decarboxylase nach Moeller mit Lysin) und dem **Minitek**-System betrug 95,4 %. Die Übereinstimmung zwischen Moeller Decarboxylase with Ornithine (Decarboxylase nach Moeller mit Ornithin) und dem **Minitek**-System betrug 90,9 %.⁸

Bei einer weiteren Studie verwendeten Westbrook et al. Moeller Decarboxylase with Ornithine (Decarboxylase nach Moeller mit Ornithin) als Komponente eines Identifizierungsschemas zur Ermittlung der Häufigkeit von *Klebsiella planticola* und *K. oxytoca* in 352 Stammsisolaten und 84 frischen klinischen Proben von *Klebsiella* sp.⁹

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

221661	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine, Packung zu 10 Röhrchen der Größe K
221662	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine, Karton zu 100 Röhrchen der Größe K
221663	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine, Packung zu 10 Röhrchen der Größe K
221664	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine, Karton zu 100 Röhrchen der Größe K

XIV LITERATUR

1. Moeller, V. 1955. Simplified tests for some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. 36:158-172.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. Farmer, J.J., III. 1999. Enterobacteriaceae: introduction and identification, p. 442-458. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Tenover, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Tenover, M.A. Tenover, and R.H. Tenover (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Tenover, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. Yabuuchi, E., K. Yamanaka, and A. Ohyama. 1981. Evaluation of 36 Minitek tests and a new approach for identification of nonfermenters. J. Clin. Microbiol. 13:572-587.
9. Westbrook, G.L., C.M. O'Hara, S.B. Roman, and J.M. Miller. 2000. Incidence and identification of *Klebsiella planticola* in clinical isolates with emphasis on newborns. J. Clin. Microbiol. 38:1495-1497.

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