

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE**I EINFÜHRUNG**

Galle-Äskulin-Agar ist ein Medium zur präsumtiven Identifizierung von *Enterococcus*-Spezies und von Streptokokken der Gruppe *Streptococcus bovis*.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Mit einer kalibrierten 0,01-mL-Impföse die Oberflächen des Schrägagars mit einer 10^{-1} Verdünnung von 18 bis 24 Stunden alten Kulturen von **Trypticase**-Sojabouillon durch Ausstreichen inokulieren.
 - b. Die Röhrchen mit gelösten Verschlüssen in einer aeroben Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubieren.
 - c. Für alle Organismen **Trypticase**-Soja-Schrägagar als nicht selektive Kontrolle mit analysieren.
2. Röhrchen nach 18 bis 24 und 42 bis 48 h auf Wachstum, Selektivität und korrekte Reaktionen überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

CLSI Kontrollorganismen (ATCC-Stämme)

* <i>Enterococcus faecalis</i>	Wachstum, Schwärzung im Bereich der Kolonien
(29212)	(Schwärzung von mindestens der Hälfte des Mediums)
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	Gehemmtes Wachstum (teilweise bis vollständig),
(19615)	keine Schwärzung

Weiterer verwendeter Stamm:

<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Wachstum, Schwärzung von mindestens der Hälfte
ATCC 9809	des Mediums

* Empfohlener Organismusstamm für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Röhrchen wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben begutachten.
2. Die repräsentativen Röhrchen auf sichtbare Beschädigungen prüfen, durch die ihre Verwendung beeinträchtigt werden könnte.
3. Nicht inokulierte repräsentative Röhrchen bei 20 bis 25 °C und 30 bis 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf mikrobielle Kontamination untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN**IV VERWENDUNGSZWECK**

Galle-Äskulin-Agar dient zur Differenzierung zwischen Enterokokken und der *Streptococcus bovis*-Gruppe von anderen Streptokokken.^{1,2}

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die Bedeutung der Äskulin-Hydrolyse bei der Identifizierung von Enterokokken wurde von Rochaix festgestellt.³ Meyer und Schonfeld fügten dem Äskulin-Medium Galle hinzu und zeigten auf, dass 61 von 62 Enterokokken Wachstum aufwiesen und Äskulin spalten konnten, wohingegen die anderen Streptokokken nicht über diese Fähigkeit verfügten.⁴ Swan verwendete ein Äskulin-Medium mit 40 % Gallensalzen und berichtete, dass eine positive Reaktion im Galle-Äskulin-Medium mit einer Präzipitin-Reaktion der serologischen Gruppe D korrelierte.⁵

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Enterokokken und bestimmte Streptokokken hydrolysieren das Glycosid Äskulin zu Äskuletin und Dextrose. Äskuletin reagiert mit einem Eisensalz und bildet einen dunkelbraunen oder schwarzen Komplex.⁶ Als Indikator für die Äskulin-Hydrolyse und die daraus resultierende Äskuletinbildung wurde dem Medium Eisen (III)-Citrat zugesetzt. Zum Hemmen des Wachstums von grampositiven Bakterien, bei denen es sich nicht um Enterokokken handelt, wird Ochsen-galle verwendet.

VII REAGENZIEN

Galle-Äskulin-Schrägagar

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebaute Gelatine	5,0	g
Rindfleischextrakt.....	3,0	g
Ochsengalle	20,0	g
Eisen (III)-Citrat	0,5	g
Äskulin	1,0	g
Agar	14,0	g

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Fest verschlossene Röhrchen 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 Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Nach Erhalt Röhrchen im Dunkeln bei 2 – 8 °C lagern, 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 mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Die Handhabung der für die Kultivierung geeigneten Proben kann auf verschiedene Arten geschehen. Detaillierte Informationen enthält die entsprechende Fachliteratur.^{7,8} Die Proben sollten vor der Verabreichung von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Bile Esculin Agar Slants

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Aseptische Kautelen beachten.

Das Medium mit zwei oder drei Kolonien inokulieren und über Nacht bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren.⁹

Qualitätskontrolle durch den Anwender

Siehe „Massnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder der Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie den Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Es wird empfohlen, die korrekten Qualitätskontrollverfahren den geltenden CLSI-Richtlinien und CLIA-Bestimmungen zu entnehmen.

X ERGEBNISSE

Ist nach 24 bis 48 h mehr als die Hälfte der Schrägseite schwarz gefärbt, ist der Test positiv.

Ist nach 24 bis 48 h weniger als die Hälfte der Schrägseite schwarz gefärbt bzw. ist keine Schwärzung zu beobachten, ist der Test negativ.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Stämme von *Lactococcus*, *Leuconostoc* und *Pediococcus*, die Galle-Äskulin-positive Reaktionen erzielen, wurden aus Humaninfektionen isoliert.^{1,9}

Einige Stämme der Viridans-Streptokokken führen zu einer Schwarzfärbung des Mediums oder weisen schwach positive Reaktionen auf.²

Zur Identifizierung müssen die Mikroorganismen in Reinkultur vorliegen. Für die endgültige Identifizierung sollten morphologische, biochemische und/oder serologische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{7,8}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Hussain et al. testeten 194 Streptokokkenisolate, die zuvor durch serologische Tests identifiziert worden waren, um die Wirksamkeit verschiedener biochemischer Tests bei der Identifizierung Streptokokken der Gruppen A und B und bei der Differenzierung zwischen Enterokokken und Nichtenterokokken Streptokokken der Gruppe D festzustellen. Es wurden 22 Stämme von Enterokokken der Gruppe D identifiziert. 100 % der Streptokokken aus Gruppe D sowie 1 Stamm aus Gruppe R und ein Stamm, der keiner Gruppe zugeordnet werden konnte, verursachten eine Schwarzfärbung des Galle-Äskulin-Schrägagars. Bei Verwendung eines starken Inokulats war die Äskulin-Hydrolyse innerhalb von 4 h bei 93 % der Testproben nachweisbar.¹⁰

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

221409 BD BBL Bile Esculin Agar Slants, Packung mit 10 Röhrchen der Größe K

221410 BD BBL Bile Esculin Agar Slants, Karton mit 100 Röhrchen der Größe K

XIV LITERATUR

1. Facklam, R.R., D.F. Sahm, and L.M. Teixeira. 1999. *Enterococcus*, p. 297-305. 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.
2. Ruoff, K.L., R.A. Wiley, and D. Beighton. 1999. *Streptococcus*, p. 283-296. 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.
3. Rochaix, A. 1924. Milieux a leciline pour le diagnostid differentiel des bacteries du groups strepts-entero pneumocoque. Comt. Rend. Soc. Biol. 90:771-772.
4. Meyer, K., and H. Schonfeld. 1926. Über die Unter sheidung des *Enterococcus* vom *Streptococcus viridans* und die Beziehung beider zum *Streptococcus lactis*. Zentralbl. Bakteriell. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I. Orig. 99:402-416.
5. Swan, A. 1954. The use of bile-esculin medium and of Maxted's technique of Lancefield grouping in the identification of enterococci (group D streptococci). J. Clin. Pathol. 7:160-163.
6. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
7. 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.
8. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
9. Ruoff, K.L. 1995. *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Stomatococcus*, and miscellaneous gram-positive cocci that grow aerobically, p. 315-323. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Hussain, Z., R. Lannigan, and L. Stoakes. 1984. A new approach for presumptive identification of clinically important streptococci. Zbl. Bakt. Hyg. A 258:74-79.

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