

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE (Optional)**I EINFÜHRUNG**

GN-Bouillon (Gramnegativ) ist ein selektives Anreicherungsmedium für die Kultivierung gramnegativer Enteroorganismen.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Mit kalibrierten 0,01-mL-Einweg-Impfösen die Röhrrchen mit 10:1-Verdünnungen von 18 bis 24 h alten Kulturen auf **Trypticase-Soja-Bouillon** inokulieren.
 - b. Die Röhrrchen mit gelösten Verschlüssen in einer aeroben Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubieren.
2. Nach 18 bis 24 h Inkubation von allen Röhrrchen Subkulturen auf MacConkey-II-Agar-Platten anlegen. Platten unter aeroben Bedingungen 18 bis 24 h lang bei 35 ± 2 °C inkubieren und auf Wachstum überprüfen.

3. Zu erwartende Ergebnisse

CLSI Kontrollorganismen (ATCC-Stämme)

* <i>Salmonella enterica</i> Subspezies <i>enterica</i> Serotyp Typhimurium (14028)	MacConkey II Agar Wachstum auf Subkultur nach 24 h.
* <i>Shigella sonnei</i> (9290)	MacConkey II Agar Wachstum auf Subkultur nach 24 h.
* <i>Escherichia coli</i> (25922)	MacConkey II Agar Wachstum auf Subkultur nach 24 h.

* Empfohlener Organismusstamm für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

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

PRODUKTINFORMATIONEN**IV VERWENDUNGSZWECK**

GN-Bouillon wird zur selektiven Anreicherung von *Salmonella* und *Shigella* verwendet.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Hajna entwickelte GN-Bouillon (Gramnegativ) als Anreicherungsmedium zur Gewinnung von *Salmonella* und *Shigella* aus klinischen Proben.^{1,2} Croft und Miller konnten mit diesem Medium mehr *Shigella*-Stämme isolieren als mit Direktausstrichen.³ Taylor und Schelhart berichteten bei Verwendung von GN-Bouillon eine bessere Isolierung von Enteropathogenen und dokumentierten im Vergleich zu Direktausstrichen einen 53%igen Anstieg bei *Shigella* und einen 36%igen Anstieg bei *Salmonella*.⁴

Derzeit wird GN-Bouillon für die mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln empfohlen.⁵

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Enzymatisch abgebautes Casein und tierisches Gewebe liefern Aminosäuren und andere Stickstoffsubstanzen, die das bakterielle Wachstum unterstützen. Mannit und Dextrose dienen als Energiequelle. Mannit liegt in höherer Konzentration als Dextrose vor, um das Wachstum von Mannit fermentierenden Spezies wie z.B. *Salmonella* und *Shigella* zu fördern und das Wachstum von *Proteus* und anderen Dextrose fermentierenden Spezies zu begrenzen. Phosphatpuffer halten den pH des Mediums konstant. Natriumchlorid sorgt dafür, dass das osmotische Gleichgewicht erhalten bleibt. Durch den Zusatz von Natriumcitrat und Natriumdesoxycholat werden grampositive und einige gramnegative Bakterien gehemmt.

VII REAGENZIEN

GN-Bouillon

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	10,0	g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	10,0	g
Dextrose	1,0	g
D-Mannit	2,0	g
Natriumcitrat	5,0	g
Natriumdesoxycholat	0,5	g
Dikaliumphosphat	4,0	g
Kaliumdihydrogenphosphat	1,5	g
Natriumchlorid	5,0	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.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“⁶⁻⁹ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. 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.^{10,11} Die Proben sollten vor der Verabreichung von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

GN Broth

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Aseptische Kautelen beachten.

Nach Eingang der Proben im Labor die Bouillon so bald wie möglich inokulieren. Abstrichproben können direkt in die Bouillon gegeben werden. Für Stuhlproben 1 g Stuhl bzw. 1 mL flüssige Stuhlprobe pro Röhrchen verwenden. Informationen zur Aufbereitung und Inokulation anderer klinischen Proben bzw. Lebensmittelproben sind in der entsprechenden Fachliteratur enthalten.^{5,10-12}

Röhrchen mit gelösten Verschlüssen bei 35 °C inkubieren und nach 6 bis 8 h sowie nach 18 bis 24 h Inkubation Subkulturen auf selektiven und differentiellen Medien anlegen.¹³

Qualitätskontrolle durch den Anwender

Siehe „Massnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Jede Mediencharge wurde gemäß entsprechenden Qualitätskontrollorganismen getestet und dieser Test erfüllt die Produktspezifikationen und die zutreffenden CLSI-Standards. Wie immer sollten Qualitätskontrolltests unter Einhaltung der kommunal, landesweit und/oder bundesweit geltenden Vorschriften, der Zulassungsbestimmungen und/oder der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen.

X ERGEBNISSE

Wachstum im Bouillon-Medium wird durch Trübung angezeigt (mit nicht inokulierten Röhrcchen vergleichen). Subkulturen auf geeigneten selektiven und differentiellen Medien anlegen, um die zu identifizierenden Pathogene zu isolieren.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Anreicherungsbouillons sollten als einziges Isolierungsmedium verwendet werden. Anreicherungsbouillons sollten in Verbindung mit selektiven und nicht selektiven Plattenmedien verwendet werden, damit die Wahrscheinlichkeit der Pathogenisolierung erhöht wird, insbesondere dann, wenn die Pathogene nur in geringer Anzahl vorliegen. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der Fachliteratur zu entnehmen.^{5,10-12}

XII LEISTUNGSMERKMALE

In einer Studie von Taylor und Schelhart wurde ein Vergleich zwischen drei Anreicherungsbouillons (GN, Selenit und Silliker) und drei Plattenmedien (EMB, SS und XLD) durchgeführt, um eine Medienkombination zu ermitteln, die den Nachweis von Shigellae verbessern würde.¹⁴ Im Rahmen dieser Studie wurden insgesamt 1405 Stuhlproben getestet, wobei eine Verteilung von 158 salmonellae-Isolaten und 49 shigellae-Isolaten beobachtet wurde. Im Vergleich zu den Plattenmedien verdoppelte sich bei der Verwendung von Anreicherungsbouillons die Isolierung von sowohl salmonellae als auch shigellae. Beim Nachweis von salmonellae wiesen alle Bouillons die gleichen Ergebnisse auf; für shigellae konnten jedoch in GN-Bouillon und Silliker-Bouillon doppelt so viele Isolate festgestellt werden wie in Selenit-Bouillon.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

221729 BD BBL GN Broth, 8 mL, Packung mit 10 Röhrcchen der Größe K

221730 BD BBL GN Broth, 8 mL, Karton mit 100 Röhrcchen der Größe K

XIV LITERATUR

1. Hajna, A.A. 1955. A new specimen preservative for gram-negative organisms of the intestinal group. *Public Health Lab.* 13:59-62.
2. Hajna, A.A. 1955. A new enrichment broth medium for gram-negative organisms of the intestinal group. *Public Health Lab.* 13:83-89.
3. Croft, C.C., and M.J. Miller. 1956. Isolation of *Shigella* from rectal swabs with Hajna "GN" broth. *Am. J. Clin. Pathol.* 26:411-417.
4. Taylor, W.I., and D. Schelhart. 1967. Isolation of shigellae. IV. Comparison of plating media with stools. *Am. J. Clin. Pathol.* 48:356-362.
5. Downes, F.P. and K. Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
7. 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.
8. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
9. 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.
10. 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.
11. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
12. Ewing, W.H. 1986. *Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
13. MacFaddin, J.F. 1985. *Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria*, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
14. Taylor, W.I. and D. Schelhart. 1968. Isolation of Shigellae. V. Comparison of enrichment broths with stools. *Appl. Microbiol.* 16:1383-1386.

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