

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE (Optional)

I EINFÜHRUNG

BD BBL Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut ist ein selektives und differenziertes Medium zur Isolierung und Differenzierung von grampositiven Mikroorganismen aus klinischen und nichtklinischen Proben. **BD BBL MacConkey-II-Agar** ist ein selektives und differenziertes Medium zum Nachweis koliformer Organismen und enterischer Pathogene.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

A. BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a) Jeder Platte 0,1 mL einer 18 bis 24 h alten Bouillonkultur hinzufügen, die so weit verdünnt wurde, dass sie 10^3 bis 10^4 KBE/0,1 mL für die *Streptococcus*- und *Staphylococcus*-Stämme und 10^4 bis 10^5 KBE/0,1 mL für den *Proteus*-Stamm enthält. Zum Inokulieren mit einem sterilen gläsernen Spatel ausstreichen.
 - b) Die Platten bei 35 ± 2 °C in einer mit CO₂ angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren.
 - c) Für alle Organismen **BD Trypticase-Soja-Agar** mit 5 % Schafblut (TSA II) als nichtselektive Kontrollen mittesten.
2. Platten nach 18–24 h auf Wachstum, Koloniegröße, Hämolysereaktion, Pigmentierung und Selektivität überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

CLSI-Kontrollorganismen	ATCC	Ergebnis
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Wachstum, Beta-Hämolyse
* <i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Wachstum, Alpha-Hämolyse
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Wachstum
* <i>Proteus mirabilis</i>	12453	Hemmung (teilweise bis vollständig)

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für Qualitätssicherung durch den Anwender.

B. BD BBL MacConkey II Agar

1. Repräsentative Proben mit Verdünnungen der nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a) Die Platten zur Isolierung mit einer 18 bis 24 h alten und auf 10^4 bis 10^5 KBE/Platte verdünnten Bouillonkultur von *Enterococcus faecalis* ausstreichen. Für den restlichen Organismus eine 18 bis 24 h alte und auf 10^3 bis 10^4 KBE/Platte verdünnte Bouillonkultur verwenden.
 - b) Platten bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren.
 - c) Als nichtselektive Kontrollen für alle Organismen TSA-II-Platten mittesten.
2. Platten nach 18 bis 24 h auf Wachstum, Koloniegröße, Pigmentierung und Selektivität untersuchen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

CLSI-Kontrollorganismen	ATCC	Ergebnis	Koloniefarbe
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Wachstum	Rosafarben
* <i>Proteus mirabilis</i>	12453	Wachstum, Ausschwärmen verhindert (partiell)	Farblos
* <i>Salmonella enterica</i> Subsp. <i>enterica</i> Serotyp Typhimurium	14028	Wachstum	Farblos
* <i>Enterococcus faecalis</i>	29212	(teilweise) gehemmtes Wachstum	
Weitere verwendete Stämme			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	Wachstum	Rosafarben bis grün
<i>Shigella dysenteriae</i>	9361	Wachstum	Farblos bis rosafarben

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Agarplatten, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben, begutachten.
2. Die repräsentativen Agarplatten auf sichtbare Beschädigungen prüfen, durch die ihre Verwendung beeinträchtigt werden könnte.
3. Den pH-Wert photometrisch bei Raumtemperatur bestimmen. Er sollte bei $7,3 \pm 0,2$ (**BD BBL Columbia-CNA-Agar** mit 5 % Schafblut) und bei $7,1 \pm 0,2$ (**BD BBL MacConkey-II-Agar**) liegen.
4. Die Festigkeit der Agarplatten während der Inokulation beachten.
5. Unbeimpfte repräsentative Agarplatten 72 h bei 35 ± 2 °C inkubieren und auf mikrobielle Kontamination untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

BD BBL Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut ist ein selektives Medium zur Isolierung von grampositiven Mikroorganismen aus einer Vielzahl klinischer und nichtklinischer Proben.

BD BBL MacConkey-II-Agar ist ein leicht selektives und differenziertes Medium zum Nachweis koliformer Organismen und enterischer Pathogene.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

A. BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

Ellner et al. berichteten 1966 über die Entwicklung einer neuen Blutagar-Zusammensetzung, die als Columbia Agar bezeichnet wurde.¹ Die Columbia-Agar-Basis, mit der ein schnelleres und ausgeprägteres Wachstum sowie klar definierte Hämolysereaktionen erzielt werden können, wird als Basis für Blutkulturmedien und für selektive Zusammensetzungen verwendet, bei denen eine Vielzahl von Antibiotika-Kombinationen als Zusätze enthalten sind.

Ellner et al. entdeckten, dass ein Medium mit 10 mg Colistin und 15 mg Nalidixinsäure je Liter in einer Columbia-Agar-Basis, angereichert mit 5 % Schafblut, das Wachstum von Staphylokokken, hämolytischen Streptokokken und Enterokokken unterstützt und gleichzeitig das Wachstum von *Proteus*-, *Klebsiella*- und *Pseudomonas*-Spezies hemmt. Die Konzentration der Nalidixinsäure in **BD BBL** Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut wurde auf 10 mg/L reduziert, um die Isolierung von grampositiven Kokken aus klinischen Proben zu verbessern.

B. BD BBL MacConkey II Agar

Zum heutigen Zeitpunkt stehen dem Laboranten zahlreiche Kulturmedien zur Isolierung, Kultivierung und Identifizierung von enterischen Bakterien zur Verfügung. Eines der ersten wurde von MacConkey entwickelt und in einer kurzen veröffentlichten Notiz beschrieben.² Die richtungweisende Abhandlung über MacConkey-Agar wurde 1905 veröffentlicht und enthielt umfassende Beschreibungen des Mediums und der erhaltenen bakteriellen Muster.³ Diese Rezeptur wurde mit dem Wissen entwickelt, dass Gallensalze von Säuren abgeschieden werden und dass bestimmte enterische Mikroorganismen Lactose fermentieren, während andere diese Fähigkeit nicht besitzen.

Seit der Veröffentlichung der frühen Abhandlungen wurde die Formel für MacConkey-Agar viele Male modifiziert. Eine 1930 veröffentlichte Zusammenstellung von Kulturmedien führt zehn bis zu diesem Zeitpunkt veröffentlichte Modifikationen auf.⁴ Neuere Modifikationen verwenden u. a. Zusätze wie z. B. Kanamycin⁵ und verzichten auf bestimmte Bestandteile wie z. B. Kristallviolett⁶ und Neutralrot.⁷

Ein modifizierter **BD BBL** MacConkey-Agar (MCIC-Agar) ist eines der von der APHA (American Public Health Association) empfohlenen Kulturmedien zur Verwendung bei Untersuchungen von Meereswasser und Muscheln.⁸ MacConkey-Agar wird zudem bei der mikrobiologischen Untersuchung von Nahrungsmitteln eingesetzt.⁹ Der Agar wird zur Verwendung mit klinischen Proben empfohlen, bei denen die Wahrscheinlichkeit groß ist, dass sie mikrobielle Mischflora enthalten, wie beispielsweise Urin, Atemwegs- und Wundproben, da der Agar eine Vorgruppierung enterischer und anderer gramnegativer Bakterien ermöglicht.¹⁰

Die **BD BBL** MacConkey-II-Agar-Rezeptur wurde 1983 veröffentlicht. Sie wurde speziell entwickelt, um die Hemmwirkung gegen das Ausschwärmen der *Proteus*-Spezies zu verbessern, eine klare und eindeutige Differenzierung von Lactose fermentierenden und nicht fermentierenden Mikroorganismen zu ermöglichen sowie ein starkes Wachstum enterischer Pathogene zu fördern.

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

A. BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

Die hervorragenden, das Wachstum unterstützenden Eigenschaften von **BD BBL** Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut leiten sich aus der Kombination von Peptonen, gewonnen durch pankreatisch abgebautes Casein, peptisch abgebauten Tiergewebe und Rindfleischextrakt ab. Hefeextrakt und Maisstärke sind ebenfalls in der Rezeptur enthalten und dienen als Energiequellen, wobei der Hefeextrakt Vitamine des B-Komplexes liefert.

Schafblut ermöglicht den Nachweis von Hämolysereaktionen und liefert den für das Wachstum vieler Bakterien erforderlichen X-Faktor (Häm). Es weist jedoch keinen V-Faktor (Nikotinamidadenindinukleotid, NAD) auf, da es NADase enthält, die NAD zerstört. Es ist zu beachten, dass dieses Medium einen relativ hohen Kohlenhydratanteil aufweist, wodurch beta-hämolytische Streptokokken eine grünliche hämolytische Reaktion hervorrufen können, die fälschlicherweise als alpha-Hämolyse interpretiert werden kann.

Durch den Zusatz der Antibiotika Colistin und Nalidixinsäure wird das Medium selektiv für grampositive Mikroorganismen. Das Colistin zerstört die Zellmembran gramnegativer Organismen, wohingegen die Nalidixinsäure die DNA-Replizierung empfindlicher gramnegativer Bakterien blockiert.¹¹

B. BD BBL MacConkey II Agar

BD BBL MacConkey-II-Agar ist ein selektives Differenzierungsmedium. Es ist nur geringfügig selektiv, da die Konzentration an Gallensalzen, die grampositive Mikroorganismen hemmen, im Vergleich mit anderen enterischen Agarmedien niedrig ist. Kristallviolett ist ebenfalls im Medium enthalten, um das Wachstum grampositiver Bakterien, besonders Enterokokken und Staphylokokken, zu hemmen.

Die Differenzierung enterischer Mikroorganismen wird durch die Kombination von Lactose und dem neutralen roten Indikator erreicht. Farblose oder rosa bis rote Kolonien werden je nach Fähigkeit des Isolats, Kohlenhydrat zu fermentieren, gebildet.

VII REAGENZIEN

BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein.....	12,0 g	Natriumchlorid	5,0 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	5,0 g	Agar	13,5 g
Hefeextrakt	3,0 g	Colistin.....	10,0 mg
Rindfleischextrakt	3,0 g	Nalidixinsäure	10,0 mg
Maisstärke	1,0 g	Defibriniertes Schafblut	5 %

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

BD BBL MacConkey II Agar

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebaute Gelatine	17,0 g	Natriumchlorid	5,0 g
Pankreatisch abgebautes Casein	1,5 g	Neutralrot	0,03 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	1,5 g	Kristallviolett	0,001 g
Lactose	10,0 g	Agar	13,5 g
Gallensalze	1,5 g		

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen: *In-vitro*-Diagnostikum.

Wenn übermäßige Feuchtigkeit vorhanden ist, das Unterteil umdrehen, versetzt auf den Deckel legen und in der Luft trocknen lassen, um zu verhindern, dass während der Inkubation eine Abdichtung zwischen dem Deckel und dem Unterteil entsteht.

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“¹²⁻¹⁵ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Gebrauchsfertige Agarplatten, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach der Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung: Agarplatten nach Erhalt bei 2–8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nicht einfrieren oder Überhitzen. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. Gebrauchsfertige Agarplatten, die bis zur Verwendung in der Originalverpackung bei 2–8 °C aufbewahrt wurden, können bis zum Verfallsdatum inokuliert und für die empfohlene Inkubationsdauer inkubiert werden. Medium vor der Inokulation Raumtemperatur annehmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts: Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Zur Probenentnahme wurden eine Vielzahl von Abstrichtupfern und Behältern entwickelt. Die Probenentnahme sollte vor der Behandlung mit Antibiotika erfolgen. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen. Mehrere Aufbewahrungsmedien oder Transportsysteme, wie beispielsweise die Probenentnahme- und Transportprodukte von **BD BBL**, werden für die Verlängerung der Lebensdauer von Mikroorganismen empfohlen, wenn eine signifikante Verzögerung zwischen Entnahme und endgültiger Kultivierung zu erwarten ist.

Einzelheiten zur Probenentnahme und -handhabung sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{16,17}

Dem Labor müssen ausreichend klinische Daten zur Verfügung stehen, sodass der Mikrobiologe die am besten geeigneten Medien und Verfahren auswählen kann.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **BD BBL** Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood und **BD BBL** MacConkey II Agar (**BD I Plate**)

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

Testverfahren: Antiseptische Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Die Agarfläche sollte glatt und feucht sein, jedoch ohne überschüssige Feuchtigkeit.

Die Probe nach dem Eintreffen im Labor schnellstmöglich ausstreichen. Die Ausstrichplatte dient primär zur Isolierung von Reinkulturen aus Proben mit Mischflora. Wenn das Material direkt von einem Abstrich kultiviert wird, alternativ den Abstrichtupfer über einen kleinen Oberflächenbereich am Rand rollen; dann von diesem inokulierten Bereich aus ausstreichen.

Platten vor Licht geschützt 18–24 h bei 35 ± 2 °C inkubieren. Mit Atemwegsproben in einer aeroben Atmosphäre unter Zusatz von Kohlendioxid inkubieren. Andere Proben aerob ohne Zusatz von CO₂ inkubieren.

Qualitätssicherung durch den Anwender:

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

Nach der Inkubation weisen die meisten Platten einen Bereich mit konfluenten Wachstum auf. Da es sich bei dem Ausstrichverfahren eigentlich um eine „Verdünnungsmethode“ handelt, wird sich eine geringere Anzahl von Mikroorganismen auf den ausgestrichenen Bereichen ablagern. Folglich sollten einer oder mehrere dieser Bereiche isolierte Kolonien der in der Probe enthaltenen Organismen aufweisen. Eine bessere Isolierung wird aufgrund der hemmenden Natur der Medien erreicht.

BD BBL Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut weist typischerweise die folgende Koloniemorphologie auf:

Streptokokken (außer Gruppe D) Klein, weiß bis gräulich, Beta- oder alpha-Hämolyse

Enterokokken (Gruppe D) Klein, jedoch größer als Streptokokken der Gruppe A, blaugrau, Beta- oder alpha-Hämolyse

Staphylokokken Groß, weiß bis grau oder cremefarben bis gelb, mit oder ohne Hämolyse

Mikrokokken Groß, weiß bis grau oder gelb bis orange, mit oder ohne Hämolyse

Corynebakterien Klein bis groß, weiß bis grau oder gelb, mit oder ohne Hämolyse

Candida Klein, weiß

Listeria monocytogenes Klein bis groß, blaugrau, mit Beta-Hämolyse

Gramnegative Bakterien Kein Wachstum bis Spuren eines Wachstums

Typische Koloniemorphologie auf **BD BBL** MacConkey II:

<i>E. coli</i>	Rosa bis rosarot (kann umgeben sein von einer Zone aus Galle-Präzipitat)
<i>Enterobacter/Klebsiella</i>	Mukoid, rosafarben
<i>Proteus</i>	Farblos, Ausschwärmung in Bereichen isolierter Kolonien gehemmt
<i>Salmonella</i>	Farblos
<i>Shigella</i>	Farblos
<i>Pseudomonas</i>	Unregelmäßige, farblos bis rosafarben
Grampositive Bakterien	Kein bis leichtes Wachstum

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Berichten zufolge wird das Wachstum von einigen *Enterobacteriaceae* und *Pseudomonas aeruginosa* auf MacConkey-Agar gehemmt, wenn in einer CO₂-Atmosphäre inkubiert wird.¹⁸

Nicht alle *E. coli*-Stämme fermentieren Lactose.

Mit der primären Platte können einige Diagnostetests durchgeführt werden. Für biochemische Tests und andere Nachweisverfahren wird jedoch die Verwendung einer Reinkultur empfohlen. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.¹⁹⁻²³

Ein einzelnes Medium reicht selten zum Nachweis aller potenziell signifikanten Organismen in einer Probe aus. Es ist zu beachten, dass das Wachstum von Organismen, die auf das im selektiven Medium verwendete Antibiotikum generell empfindlich reagieren, je nach Konzentration des Antibiotikums, den Charakteristika des mikrobiellen Stamms und der Anzahl der Organismen im Inokulum ganz oder teilweise gehemmt werden kann. Das Wachstum von generell gegen das Antibiotikum resistenten Organismen wird in der Regel nicht gehemmt. Daher sollten auf selektiven Medien kultivierte Proben mit auf nichtselektiven Medien kultivierten Proben verglichen werden, um zusätzliche Informationen zu erhalten und die Gewinnung potenzieller Pathogene sicherzustellen.

XII LEISTUNGSMERKMALE

BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

Vor der Freigabe werden alle Chargen von **BD BBL** Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Repräsentative Proben der Charge werden mit 0,1 mL der folgenden ausgestrichenen Kulturen inokuliert: *Proteus mirabilis* (ATCC 12453), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 6305) und *S. pyogenes* (ATCC 19615). Die Inokula für *S. aureus*, *S. pneumoniae* und *S. pyogenes* werden so weit verdünnt, dass sie 10³ bis 10⁴ KBE/0,1 mL ergeben; das Inokulum für *P. mirabilis* wird so weit verdünnt, dass es 10⁴ bis 10⁵ KBE/0,1 mL ergibt. Nach der Inokulation werden die Platten bei 35 ± 2 °C in einer mit CO₂ angereicherten aeroben Atmosphäre inkubiert. Nach einer Inkubation von 18 bis 24 h zeigen *S. aureus*, *S. pneumoniae* und *S. pyogenes* mäßiges bis starkes Wachstum mit der typischen Koloniemorphologie, Pigmentierung und Hämolysereaktionen, wohingegen *P. mirabilis* kein bis mäßiges Wachstum ohne Ausschwärmung der Kolonien zeigt.

BD BBL MacConkey II Agar

Vor der Freigabe werden alle Chargen von **BD BBL** MacConkey-II-Agar auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Repräsentative Proben der Charge werden mit den folgenden ausgestrichenen Kulturen inokuliert: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Proteus mirabilis* (ATCC 12453), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028), *Shigella dysenteriae* (ATCC 9361) und *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Das Inokulum für *E. faecalis* wird so weit verdünnt, dass es 10⁴ bis 10⁵ KBE/Platte ergibt; die Inokula für alle anderen Organismen werden so weit verdünnt, dass sie 10³ bis 10⁴ KBE/Platte ergeben. Nach der Inokulation werden die Platten bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubiert. Nach einer Inkubation von 18 bis 24 h sind die Kolonien von *E. coli* rosarot und können von Galle-Präzipitat umgeben sein. *P. mirabilis* zeigt mäßiges bis starkes Wachstum farbloser Kolonien, deren Schwärmen gehemmt ist. *P. aeruginosa* zeigt Bereiche mit konfluentem Wachstum, welches eine grüne bis gelbgrüne Pigmentierung zeigen kann, während einzelne Kolonien eine rosa bis grüne Pigmentierung aufweisen. *Salmonella* Typhimurium liefert mäßiges bis starkes Wachstum farbloser Kolonien. *S. dysenteriae* zeigt ein Wachstum farbloser bis rosafarbener Kolonien. *E. faecalis* ist vollständig bis partiell gehemmt (mäßiges Wachstum), und die Kolonien können eine Rosafärbung aufweisen.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

221600	BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood und BD BBL MacConkey II Agar BD I Plate , Packung mit 20 Platten € €
221601	BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood und BD BBL MacConkey II Agar BD I Plate , Karton mit 100 Platten

XIV LITERATUR

1. Ellner, P.D., C.J. Stoessel, E. Drakeford, and F. Vasi. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:502–504.
2. MacConkey, A.T. 1900. Note on a new medium for the growth and differentiation of the *Bacillus coli communis* and the *Bacillus typhi abdominalis*. *The Lancet*, Part II:20.
3. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. *J. Hyg.* 5:333–379.
4. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
5. Andersen, R.L., D.R. Graham, and R.E. Dixon. 1981. Rapid presumptive identification of *Citrobacter diversus* as an aid in controlling infections. *J. Clin. Microbiol.* 74:161–164.
6. World Health Organization. 1963. International standards for drinking waters, 7th ed. Churchill Ltd. London.
7. Walters, E.W., M.L. Cooper, and H.M. Keler. 1954. The detection microscopically of colonies of *Shigella* in stool cultures. *J. Bacteriol.* 67:247–251.
8. Greenberg, A.E., and D.A. Hunt (ed.). 1985. Laboratory procedures for the examination of seawater and shellfish, 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
9. Downes and Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
10. 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.
11. Estevez, E.G. 1984. Bacteriologic plate media: review of mechanisms of action. *Lab. Med.* 15:258–262.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Isenberg, H.D., F.D. Schoenknecht, 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.
17. 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.
18. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO₂ vs. ambient incubation, abstr. C179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.
19. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 5th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
20. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
21. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
22. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Tenover, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
23. 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.

Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung in Verbindung oder besuchen Sie www.bd.com.



 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.

© 2017 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.