

BD TCBS Agar

VERWENDUNGSZWECK

BD TCBS Agar (Thiosulfat-Citrat-Galle-Saccharose-Agar) ist ein selektives Differenzierungsmedium zur Isolierung und Kultivierung von *Vibrio cholerae* und anderen *Vibrio*-Spezies aus klinischen Proben.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Vibrio-Spezies sind weltweit natürliche Bewohner von brackigem Wasser und Salzwasser.^{1,2} Menschliche Darmerkrankungen werden mit dem Verzehr von kontaminiertem Wasser, Schalentieren oder anderen Meeresfrüchten in Verbindung gebracht. *Vibrio cholerae* ist der ätiologische Erreger von sekretorischer Diarrhö (Cholera), welche durch die Aufnahme von verseuchtem Trinkwasser und kontaminierten Nahrungsmitteln und auf dem fäkal-oralen Weg verbreitet wird.² Verschiedene andere *Vibrio*-Spezies, z.B. *V. parahaemolyticus* und *V. fluvialis* sind die Ursache von akuter Gastroenteritis. Einige *Vibrio*-Spezies, z.B. *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* und *V. damsela*, werden außerdem mit extraintestinalen Infektionen, wie z.B. Wundinfektionen, Sepsis, Meningitis und anderen, in Verbindung gebracht.¹⁻³ Wundinfektionen mit *Vibrio* treten insbesondere dann auf, wenn Patienten mit brackigem Wasser oder Salzwasser in Berührung gekommen sind.^{2,3}

BD TCBS Agar mit der Zusammensetzung von Kobayashi et al. ist eine Modifikation des selektiven Mediums von Nakanishi.^{4,5} Alle für Menschen pathogene *Vibrio* spp., mit der Ausnahme von *V. hollisae*, wachsen auf diesem Medium. Dieses Medium wird zur Isolierung von *Vibrio* spp. aus Stuhlproben empfohlen^{1,2,6} und wird auch in den Standard-Testmethoden für Nahrungsmittel erwähnt.^{7,8} Es ist äußerst selektiv, erfüllt die Nährstoffanforderungen von *Vibrio* spp und erlaubt den Vibrios, mit der Darmflora zu konkurrieren. Alle Mitglieder dieses Genus können auf Medien mit erhöhter Salzkonzentration wachsen und einige Spezies sind halophil.⁶

In **BD TCBS Agar** liefern Hefeextrakt und Pepton Stickstoff und Vitamine. Natriumcitrat, Natriumthiosulfat, Ochsen-galle und Natriumcholat sind selektive Agenzien, welche für eine alkalischen pH-Wert sorgen, um grampositive Organismen zu hemmen und Kolibakterien zu unterdrücken. Der pH-Wert des Mediums ist erhöht, um das Wachstum von *Vibrio cholerae* zu fördern, und weil dieser Organismus gegenüber einer säurehaltigen Umgebung empfindlich ist. Die hohe Natriumkonzentration fördert das Wachstum von *Vibrio cholerae*, welches halotolerant ist, und anderer *Vibrio*-Spezies, von welchen die meisten halophil sind. Sachharose ist ein fermentierbares Kohlehydrat, während Natriumchlorid das Wachstum stimuliert. Natriumthiosulfat ist eine Schwefelquelle und agiert, zusammen mit Eisen (III)-Citrat, als Indikator zum Nachweis von Schwefelwasserstoffbildung. Bromthymolblau und Thymolblau sind pH-Indikatoren.

REAGENZIEN

BD TCBS Agar

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Hefeextrakt	5,0 g	Saccharose	20,0 g
Pankreatisch abgebautes Casein	5,0	Natriumchlorid	10,0
Peptisch abgebautes Tiergewebe	5,0	Eisen (III)-Citrat	1,0
Natriumcitrat	10,0	Bromthymolblau	0,04
Natriumthiosulfat	10,0	Thymolblau	0,04
Ochsen-galle	5,0	Agar	14,0
Natriumcholat	3,0		

pH 8,6 ± 0,2

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

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch. ⓧ

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Platten 18 – 24 h bei 35 – 37 °C aerob inkubieren.

Stämme	Wachstum
<i>V. cholerae</i> NCTC 8021 oder ATCC 9459	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; Kolonien von gelben Zonen umgeben
<i>V. parahaemolyticus</i> ATCC 17802	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; grüne bis blaugrüne Kolonien; Medium praktisch unverändert
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum; kleine gelbe Kolonien
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum; kleine Kolonien, durchscheinend
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum; blaue Kolonien
Nicht inokuliert	Grün bis blaugrün

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD TCBS Agar (90 mm **Stacker-Platten**). Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten und Probentransport

Dieses Medium wird zur Isolierung von *Vibrio*-Spezies aus Stuhlproben (insbesondere wenn die Patienten Meeresfrüchte zu verzehrt haben) oder extraintestinalen klinischen Proben mit Verdacht auf *Vibrio*-Spezies verwendet (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Proben, wie z.B. Rektalabstriche, Proben von Erbrochenem oder Nahrungsmittelproben, insbesondere von Meeresfrüchten, können ebenfalls verwendet werden. Abstriche sollten in einem Cary und Blair Transportmedium transportiert werden, da *Vibrio* spp besonders austrocknungsempfindlich sind.² Alle Darmproben und Nahrungsmittelproben können in Röhrchen mit alkalischem Peptonwasser gegeben werden, um ein Austrocknen zu vermeiden, und ohne Verzögerung ins Labor transportiert werden. Transportzeiten von mehr als 8 h reduzieren die Lebensfähigkeit. Proben oder Abstriche nicht einfrieren!

Testverfahren

Proben sofort nach Eingang mit Hilfe einer anerkannten Ausstrichmethode im Labor auf **BD TCBS Agar** ausstreichen. Proben und Nahrungsmittelproben können direkt oder nach sorgfältiger Homogenisierung (besonders bei der Überprüfung von Meeresfrüchten) aufgetragen werden. Austrocknung während der Handhabung vermeiden. Es wird empfohlen, auch ein weniger selektives Medium mit einzubeziehen, wie z.B. **BD DCLS Agar**, welcher MacConkey Agar für die Isolierung von *Vibrio*-Spezies überlegen ist. Alle extraintestinalen Proben (z.B. Proben aus Wunden, usw.) müssen auch auf einem nicht selektiven Blutagar-Medium, z.B. **BD Columbia Agar with 5 % Sheep Blood**, und einer **BD Mac-Conkey II Agar**-Platte ausgestrichen werden, um den Nachweis von anderen möglicherweise an der Infektion beteiligten Erregern zu ermöglichen. Platten bei 35 – 37 °C 18 – 24 h aerob inkubieren. Bei negativem Ergebnis weitere 18 – 24 h inkubieren.

Proben und klinische Proben mit Verdacht auf niedrige *Vibrio*-Keimzahlen können zuerst auch durch Inkubation eines aliquoten Anteils der Probe in alkalischem Peptonwasser bei 35 ± 2 °C angereichert werden.^{2,8} Subkulturen werden auf TCBS- und Blutagar 8 und 18 h nach der Inkubation angelegt.

Ergebnisse

Auf **BD TCBS Agar** erscheinen Saccharose fermentierende Vibrios (*V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. cincinnatiensis*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. metschnikovii*) als mittelgroße, glatte, opake, gelbe Kolonien. Die meisten anderen klinisch bedeutenden Vibrios, einschließlich *V. parahaemolyticus*, sind nicht Saccharose-fermentierend und erscheinen als grüne bis blau-grüne Kolonien.² Zusätzliche biochemische und/oder serologische Test sind zur endgültigen Identifizierung und zur Differenzierung von Saccharose-fermentierenden und nicht Saccharose-fermentierenden Spezies notwendig.^{1,2,7,8}

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD TCBS Agar ist ein Standardmedium zur Isolierung von *Vibrio cholera* und anderer *Vibrio*-Spezies aus Stuhlproben von Patienten mit Diarrhö, besonders nach dem Verzehr von Meeresfrüchten, oder wenn ein Verdach auf Ausbruch von Cholera besteht.^{1,2,6,7} Es kann ebenfalls zum Nachweis von *Vibrio* in extraintestinalen Proben verwendet werden.

BD TCBS Agar ist außerdem ein Standardmedium zur Isolierung von *Vibrio* aus Nahrungsmitteln.^{8,9}

Da die Nährstoffanforderungen von Organismen variieren, können einige Stämme auf diesem Medium ein schwaches Wachstum zeigen. Aus diesem Grund sollten auch weniger selektive Medien zum Nachweis von *Vibrio*-Spezies und anderer Darmerreger (z.B. *Salmonella* und *Shigella*) miteinbezogen werden; **BD DCLS Agar** wird zu diesem Zweck empfohlen.

Auf **BD TCBS Agar** können *V. parahaemolyticus* ähnlich aussehen wie *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides* und *Pseudomonas*-Spezies. Saccharose-fermentierende *Proteus*-Spezies bilden gelbe Kolonien, welche *Vibrio*-Kolonien ähneln können. Einige *V. cholerae*-Stämme erscheinen auf **BD TCBS Agar** auf Grund verzögerter Saccharose-Fermentierung grün oder farblos.

TCBS-Medien erzielen bei Oxidasetests von *Vibrio* spp. unzureichende Ergebnisse.²

Zur vollständigen Identifizierung und Bestätigung von auf diesem Medium isolierten *Vibrio* spp. sind weitere Tests notwendig. Die entsprechende Literatur ist zu beachten.^{2,6-9}

LITERATUR

1. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. *Vibrio* and related species, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, and others, p. 429-444. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
2. Farmer III, J.J., J.M. Janda, and K. Birkhead. *Vibrio*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Pavia, A.T., et al. 1989. *Vibrio carchariae* infection after a shark bite. Ann. Intern. Med. 111: 85-86.

4. Kobayashi, T., S. Enomoto, R. Sakazaki, and S. Kuwahara. 1963. A new selective medium for pathogenic vibrios, TCBS (modified Nakanishi's agar). *Jpn. J. Bacteriol.* 18:387.
5. Nakanishi, Y. 1963. An isolation agar medium for cholerae and enteropathogenic halophilic vibrios. *Modern Media* 9:246.
6. Grasmick, A. 1992. Processing and Interpretation of bacterial fecal cultures. *In*: Isenberg D (ed): *Clinical microbiology procedures handbook*, Volume 1. Aerobic bacteriology (section editor: Pezzlo M). pp. 1.10.1-1.10.21. American Society for Microbiology, Washington, DC.
7. Kist, M., et al. 2000. Infektionen des Darmes. *In*: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gattermann (eds.): *MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik*, vol. 9. Urban & Fischer, Munich, Germany.
8. Association of Official Analytical Chemists. 1995. *Bacteriological analytical manual*, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
9. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4th edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD TCBS Agar

Best.-Nr. 254432

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8-12

69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

©2019 BD. BD, the BD logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.