

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

VERWENDUNGSZWECK

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood wird zur Isolierung und für das Wachstum von anspruchsvollen und nicht anspruchsvollen Bakterien-Spezies, einschließlich *Brucella*, aus klinischen Proben verwendet.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Brucellose ist eine zoonotische Erkrankung mit Haustieren als Träger. Die Übertragung erfolgt gewöhnlich durch Milch, Milchprodukte, Fleisch sowie durch direkten Kontakt mit infizierten Tieren.¹⁻³ *Brucella*-Agar wurde zur Kultivierung von *Brucella*-Spezies aus diagnostischen Proben, wie z.B. Blut, sowie aus Nahrungsmitteln und anderen potentiell kontaminierten Materialien entwickelt. *Brucella*-Agar wird gemäß der APHA-Formel für Albimi-Bouillon zubereitet, welche zur Isolierung von *Brucella*-Spezies verwendet wird.⁴⁻⁷ **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** ist besonders geeignet zur Kultivierung aller anspruchsvolleren aeroben, mikroaerophilen und anaeroben Mikroorganismen, einschließlich Streptokokken, Pneumokokken, *Listeria*, *Brucella*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* und *Helicobacter pylori*.^{1,6-10}

Dieses Medium unterstützt das Wachstum von anspruchsvollen Mikroorganismen aufgrund seines Gehalts an Peptonen, Dextrose, Hefeextrakt und Blut. Die Peptone liefern organischen Stickstoff. Der Hefeextrakt ist eine reichhaltige Vitamin-B-Quelle. Glucose wird als eine Energiequelle genutzt. Pferdeblut liefert die Faktoren X und V, welche zu den Wachstumsanforderungen gewisser Organismen, z.B. *Haemophilus influenzae*, gehören. Es wird darauf hingewiesen, dass beta-hämolytische Reaktionen von der Art des beigefügten Blutes abhängen. So produzieren beispielsweise Enterokokken, die nur sehr selten Schafblut hämolysieren, eine gut sichtbare Beta-Hämolysen auf Pferdeblut. *Staphylococcus aureus*, im Allgemeinen beta-hämolytisch in Verbindung mit Schafblut, ruft auf Pferdeblut oftmals keine Hämolysen-Reaktion hervor. Beta-hämolytische Streptokokken und *Haemophilus haemolyticus* können durch eine Gramfärbung auf einem Ausstrich von der Kolonie differenziert werden.

REAGENZIEN

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	10,0 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	10,0
Glucose	1,0
Hefeextrakt	2,0
Natriumchlorid	5,0
Natriumhydrogensulfit	0,1
Agar	15,0
Pferdeblut, defibriniert	5%

pH 7,0 ± 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.

Laborverfahren im Zusammenhang mit *Brucella* erfordern spezielle Geräte und Methoden, um die Biogefährdung zu minimieren.^{1,9} Bei der Handhabung von Proben und Kulturen ist der Biosafety Level 3 einzuhalten.

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**). Inokulierte Platten bei 35 ± 2 °C in einer mit Kohlendioxid angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren. Platten nach 18 – 24 h auf Wachstum, Koloniegröße und Hämolysereaktionen überprüfen.

Stämme	Wachstum
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; Beta-Hämolyse
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; Alpha-Hämolyse
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; mit oder ohne Beta-Hämolyse
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; kleine bis mittelgroße transparente Kolonien, keine Hämolyse
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; große Kolonien, glänzend und grau
Nicht inokuliert	Rot (blutfarben)

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood (90 mm **Stacker**-Platten). Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood kann für alle Probenarten verwendet werden, wenn der Verdacht besteht, dass anspruchsvolle oder langsam wachsende Organismen an einer Infektion beteiligt sind. Optimale Proben zur Diagnose von Brucellose sind Blut und Knochenmark. Für die Entnahme und den Transport solcher Proben sind die Literaturhinweise hinzuzuziehen.^{1,8,9} Proben von Patienten mit Verdacht auf Brucellose sind entsprechend zu beschriften, sodass die Exposition im Labor gegenüber diesem Agens minimiert werden kann. Dieses Medium sollte nicht als Universal-Erstisolierungsmedium verwendet werden (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

Testverfahren

Probe möglichst bald nach Eingang im Labor austreichen. Diese Platte wird hauptsächlich zur Isolierung von Reinkulturen aus Proben mit einer gemischten Flora verwendet.

Falls das Material direkt von einem Tupfer kultiviert wird, Tupfer über einen kleinen Bereich am Rand der Oberfläche rollen; anschließend aus diesem inokulierten Bereich austreichen.

Da zur Erstisolierung vieler Erreger Kohlendioxid erforderlich ist, sollten die Platten in einer Atmosphäre mit etwa 5 % CO₂ inkubiert werden.

Platten 18 – 24 h bei 35 ± 2 °C in einer mit Kohlendioxid angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren. Zur Isolierung von *Brucella* kann eine Inkubation von 3 – 7 Tagen oder länger bei 35 – 37 °C notwendig sein. Die entsprechenden Literaturhinweise sind zu beachten.^{1,8}

Ergebnisse

Nach der Inkubation werden die meisten Platten einen Bereich konfluierenden Wachstums aufweisen. Da das Ausstreichen in Wirklichkeit eine „Verdünnungstechnik“ darstellt, wird eine sich verringernde Anzahl von Mikroorganismen auf den ausgestrichenen Bereichen abgelagert. Folglich sollten einer oder mehrere dieser Bereiche isolierte Kolonien der in der Probe enthaltenen Organismen aufweisen. Außerdem kann das Wachstum jedes Organismus auf der Basis des Wachstums in jedem der ausgestrichenen Bereiche semi-quantitativ bestimmt werden. Die entsprechende Literatur enthält Informationen zur Isolierung und Identifizierung von *Brucella*.^{1,2,8}

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood ist eine Standardrezeptur zur Isolierung von anspruchsvollen Bakterien, Streptokokken, Pneumokokken, *Listeria*, *Brucella*, *Neisseria meningitidis* und *Haemophilus influenzae*.^{1,2,6-8} Es wird ebenfalls als nicht selektives Erstisolierungsmedium für *Helicobacter pylori* empfohlen.¹⁰ Da es nicht selektiv ist, wachsen viele anspruchsvolle und nicht anspruchsvolle Mikroorganismen auf diesem Medium. Zur Isolierung von bestimmten Mikroorganismen aus stark kontaminierten Proben müssen die geeigneten selektiven Medien mit einbezogen werden. Das Medium kann ebenfalls als Subkultivierungsmedium für Blutkulturen, z.B. in Fällen mit Verdacht auf Brucellose, verwendet werden.^{1,3,9}

Dieses Medium wird im Allgemeinen nicht als Universal-Erstisolierungsmedium verwendet. Für diesen Zweck werden üblicherweise Rezepturen auf der Basis von Columbia- oder Trypticase-Soya-Agar, ergänzt mit Blut, bevorzugt.^{2,6,8} Obwohl dieses Medium ebenfalls für obligate Anaerobier verwendet werden kann, werden angereicherte Medien, z.B. **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** für diesen Zweck bevorzugt.⁶

Zur Identifizierung der auf diesem Medium isolierten Organismen sind weitere Differenzierungs- und Identifizierungsverfahren notwendig.^{1,8}

LITERATUR

1. Chu, M.C., and R.S. Weyant. 2003. *Francisella* and *Brucella*. 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.
2. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Tenover. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
3. Yagupsky, P. 1999. Detection of brucellae in blood cultures. J. Clin. Microbiol. 37: 3437-3442.
4. Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (ed.). 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of food, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
5. Hausler, W. J. (ed.). 1976. Standard methods for the examination of dairy products, 14th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. 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.
7. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, vol. 1, p.110-114. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
8. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Seifert, H., et al. 1997. Sepsis – Blutkulturdiagnostik. In: MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 3. G. Fischer Verlag. Stuttgart, Germany.
10. Versalovic, J., and J.G. Fox. 2003. *Helicobacter*. 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.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

Best.-Nr. 255027

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

D-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

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

© 2013 BD