



BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

VERWENDUNGSZWECK

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 (BD Brucella-Blutagar mit Hämin und Vitamin K1) ist ein nährstoffreiches Medium zur Isolierung und Kultivierung von obligaten Anaerobiern aus klinischen Proben.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 ist eine Modifikation von Brucella-Agar, welche mit Hämin und K1 ergänzt wurde, um bei anaerober Inkubation das Wachstum von anspruchsvollen Anaerobiern, insbesondere *Bacteroides*, *Prevotella* und *Porphyromonas*, zu unterstützen.¹⁻³ Es wird zur Isolierung von obligaten Anaerobiern aus klinischen Proben verwendet. Es wird ebenfalls zur Empfindlichkeitsprüfung von Anaerobiern mit Hilfe des E-Testverfahrens verwendet.⁴⁻⁶

In **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** liefern Peptone und Hefeextrakt, zusammen mit Glucose, die Nährstoffe. Natriumhydrogensulfit verringert das Redoxpotential auf einen für obligate Anaerobier geeigneten Bereich. Hämin und Vitamin K1 haben sich als notwendig zur Unterstützung des Wachstums gewisser obligater Anaerobier erwiesen.⁷ Schafblut liefert zusätzliche Nährstoffe und wird zum Nachweis von hämolytischen Reaktionen benötigt.

REAGENZIEN

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	10,0 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	10,0
Hefeextrakt	2,0
Glucose	1,0
Natriumchlorid	5,0
Natriumhydrogensulfit	0,1
Hämin	0,005
Vitamin K1	0,01
Agar	15,0
Schafblut, defibriniert	5 %

pH 7,2 ± 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.

AUFBEWAHRUNG 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 48 – 72 h bei 35 – 37 °C anaerob inkubieren (z.B. BD **GasPak** Anaerobic System).

Stämme	Wachstum
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; graue Kolonien
<i>Clostridium perfringens</i> , ATCC 13124	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; große, lappenförmige, grauweiße Kolonien; Beta-(Doppelzonen)-Hämolyse
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; grauweiße Kolonien, umgeben von dunkelgrauen Zonen
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; weißliche Kolonien
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Mittleres bis gutes Wachstum; schmutzig-weißliche bis graubraune Kolonien
Nicht inokuliert	Rot bis dunkelrot (blutfarben)

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 (90 mm **Stacker**-Platten).

Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 ist ein Universalmedium zur Isolierung und Kultivierung von obligaten Anaerobiern aus allen Probenarten (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Anerkannte Verfahren zur Probenentnahme und zum Transport von anaeroben Proben sind zu befolgen.⁸⁻¹⁰ Geeignete Transportmedien, z.B. **BD Port-A-Cul**, müssen verwendet werden.

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 wird ebenfalls zur Empfindlichkeitprüfung von obligaten Anaerobiern mit Hilfe des E-Tests verwendet, für welchen Reinkulturen benötigt werden.⁴⁻⁶

Testverfahren

Probe sofort nach Eingang mit einer anerkannten Ausstrichmethode auf **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** ausstreichen. Platten sofort nach dem Ausstreichen in anaerobe Gefäße mit anaerober Atmosphäre geben. Es wird empfohlen, **BD GasPak**-Gläser und **BD GasPak**-H₂/CO₂-Hüllen zusammen mit einem Katalysator zu verwenden. Platten 2-3 Tage oder länger, wenn nötig, bei 35 – 37 °C inkubieren. Ungeachtet des verwendeten anaeroben Systems ist es wichtig, einen Anaerobioseindikator einzuschließen, wie z.B. den anaeroben **BD GasPak** Einmalindikator.

Werden Proben mit gemischter Flora auf diesem Medium ausgestrichen, wird empfohlen, ebenfalls ein selektives Medium, wie z.B. **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** und/oder **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**, mit einzubeziehen. Es können auch fakultative Anaerobier in der Probe vorhanden sein. Es wird deshalb empfohlen, grundsätzlich ein aerobes Medium mit einzubeziehen (z.B. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**), wenn die Erstkulturen angelegt worden sind. Diese Platte wird zusammen mit den anaeroben Kulturen aerob in einer mit Kohlendioxid angereicherten

Atmosphäre inkubiert.⁸ Dies erlaubt den Nachweis von in der Probe vorhandenen fakultativen Organismen.

Für die Verwendung von **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** in anaeroben Empfindlichkeitsprüfungen mit Hilfe des E-Tests sind die Literaturhinweise oder die Anweisungen des Herstellers zu beachten.⁴⁻⁶

Ergebnisse

Platten nach der Inkubation auf Wachstum überprüfen. Kolonien, welche auf diesem Medium erscheinen, sind vermutlich obligate Anaerobier, wenn sie auf aerob inkubierten Blutagar-Platten kein Wachstum zeigen. Schließlich wird das Wachstum auf **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** mit dem Wachstum auf den anderen Medien verglichen. Falls gemischte Kulturen aus obligaten und fakultativen Anaerobiern vorhanden sind, sollten geeignete Subkulturen auf nicht selektiven Medien, aerob und anaerob inkubiert, aus den anaeroben Medien hergestellt werden, um zu bestätigen, dass das Isolat ein obligater Anaerobier ist.

Weitere mikroskopische und biochemische Untersuchungen sind zur Identifizierung der Genera und Spezies der obligaten Anaerobier notwendig. Weitere Informationen sowie die Identifizierungsverfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{6,8,9,11}

Für das Ablesen der auf diesem Medium erhaltenen E-Testergebnisse sind die Literaturhinweise oder die Anweisungen des Herstellers zu beachten.⁴⁻⁶

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Auf **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**, eines der nicht selektiven Standardmedien für die Isolierung von obligaten Anaerobiern, wachsen *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, obligat anaerobe, nicht Sporen-bildende Stäbchen (z.B. die frühere Gattung *Eubacterium*), *Mobiluncus*, *Actinomyces* und viele andere.^{6,8-11}

Es wird ebenfalls zur Empfindlichkeitsprüfung mit Hilfe des E-Testverfahrens verwendet.⁴⁻⁶

Leistungsergebnisse¹²

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 wurde internen Untersuchungen mit klinischen Isolaten und Sammelstämmen der folgenden obligat anaeroben Spezies unterzogen und mit **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** (=Referenzmedium) verglichen: *Bacteroides fragilis*, *B. distasonis*, *Prevotella bivia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas levii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Campylobacter (Bacteroides) gracilis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium perfringens*, *Mobiluncus mulieris*, *Eggerthella lenta* (*Eubacterium lentum*). Beide Medien wurden mit 10³ bis 10⁴ KBE pro Platte inokuliert und 3 Tage anaerob inkubiert. Die Anzahl der Kolonien auf dem Testmedium war bei allen getesteten Stämmen gleich oder höher als auf dem für den Test verwendeten Referenzmedium.

Verfahrensbeschränkungen

Es ist zu beachten, dass die Wachstumsraten von obligaten Anaerobiern stark variieren. Während *Bacteroides fragilis* schon nach 24 Stunden gut wachsen, brauchen *Mobiluncus*- oder *Porphyromonas*-Stämme 4 – 5 Tage und *Actinomyces* sogar 1 – 3 Wochen, um gut sichtbare Kolonien zu produzieren. Wenn Kulturen nach 2 oder 3 Tagen Inkubation negativ sind, noch einmal 2 – 3 Tage anaerob inkubieren. Bei Verdacht auf *Actinomyces* sollten bestimmte Kulturplatten dieses Mediums und anderer Medien (z.B. **BD Columbia Agar with 5 % Sheep Blood**) inokuliert werden und nach 1, 2 und eventuell 3 Wochen Inkubationszeit überprüft werden.

Dieses Medium ist nicht speziell selektiv für obligate Anaerobier; fakultative Organismen weisen ebenfalls Wachstum auf. Deshalb ist es wichtig, die Ergebnisse der anaeroben Kultur mit jenen einer aerob inkubierten Platte zu vergleichen, falls gemischte Kulturen erhalten werden.

LITERATUR

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.

2. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. J. Bacteriol. 80:164-170.
3. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 368. In E.H. Lennette, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Citron, D.M., et al. 1991. Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. J. Clin. Microbiol. 29: 2197-2203.
5. Church, D.L., et al. 1996. Metronidazole susceptibility and the presence of hydrogenase in pathogenic bacteria.
6. Citron, D.A., and D.W. Hecht. 2003. Susceptibility test methods: anaerobic bacteria. 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. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. J. Bacteriol. 80:164-170.
8. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
9. Summanen, P., E.J. Baron, D.M. Citron, C.A. Strong, H.M. Wexler, and S.M. Finegold. 1993. Wadsworth anaerobic bacteriology manual, 5th ed. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
10. Murray, P.R., and D.M. Citron. 1991. General processing of specimens for anaerobic bacteria. In: A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Data on file. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Germany.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

Best.-Nr. 255509

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

E test is a registered trademark of AB Biodisk, Solna, Sweden

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD