

## BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin • BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin

### VERWENDUNGSZWECK

**BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin** (Schokoladenagar mit IsoVitaleX und Bacitracin) und **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin** (Hirn-Herz-Infus-Agar mit 5 % Pferdeblut und Bacitracin) sind selektive Medien für die Isolierung von *Haemophilus influenzae* aus klinischen Proben.

### GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Obwohl die *Haemophilus*-Spezies ein üblicher Teil der Flora der menschlichen oberen Atemwege darstellen, sind gewisse Serotypen von *H. influenzae*, wie z.B. b und f (und viel seltener auch c), häufige Auslöser von Meningitis, Sepsis, Epiglottitis und anderer schwerer Infektionen. Bis zur Einführung von Impfungen in vielen Ländern war *H. influenzae* eine der drei führenden Ursachen von bakterieller Meningitis weltweit.<sup>1</sup> Auf regulären Medien mit Schafblut-Agar können *H. influenzae* und bestimmte andere *Haemophilus*-Spezies nicht wachsen, weil sie dazu die Faktoren X (=Häm) und V (=NAD) benötigen.

**BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin** enthält Hämoglobin, welches das Häm liefert, und **BD IsoVitaleX**, welches für NAD (=Nikotinamidadenindinukleotid) und andere Vitamine sorgt. Die allgemeinen Nährstoffe werden von der GC II Schokoladen-Agar-Basis geliefert.

In **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin** werden die allgemeinen Nährstoffe von Hirn-Herz-Infus-Agar geliefert, während das Pferdeblut für das Häm (Faktor X) und NAD (Faktor V) sorgt, um das Wachstum von *H. influenzae* zu unterstützen. Das Wachstum dieses Organismus kann mit der Platzierung von Faktor V-Streifen (z.B. **BD Taxo** Faktor V-Streifen) auf dem Medium nach der Inokulation gefördert werden.

Bacitracin wurde beiden Medien zugefügt, um den Großteil der normalen Flora zu hemmen, während *H. influenzae* gegen dieses Antibiotikum resistent ist.<sup>1-4</sup>

**BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin** und **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin** werden für die Isolierung *Haemophilus influenzae* aus klinischen Proben mit normaler Flora verwendet.

### REAGENZIEN

Zusammensetzungen\* pro Liter destilliertem Wasser

BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin		BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin	
Pankreatisch abgebautes Casein	7,5 g	Hirn-Herz-Infus von Frischgewebe	8,0 g
Hochwertiges Fleischpepton	7,5	Peptisch abgebautes Tiergewebe	5,0
Maisstärke	1,0	Pankreatisch abgebautes Casein	16,0
Dikaliumhydrogenphosphat	4,0	Natriumchlorid	5,0
Kaliumdihydrogenphosphat	1,0	Glucose	2,0
Natriumchlorid	5,0	Dinatriumhydrogenphosphat	2,5
Agar	14,0	Agar	13,5
Bacitracin	50000 IU	Bacitracin	16500 IU
Hämoglobin	10,0	Pferdeblut, defibriert	50,0 mL
<b>IsoVitaleX</b>	10,0 mL	pH 7,4 ± 0,2	
pH 7,2 ± 0,2			

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

Das **BD IsoVitaleX** Enrichment (IsoVitaleX Anreicherung) in **BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin** enthält die folgenden Wachstumsfaktoren (Zusammensetzung\* pro Liter destilliertem Wasser):

Vitamin B <sub>12</sub>	0,01 g
L-Glutamin	10,0
Adenin	1,0
Guaninhydrochlorid	0,03
p-Aminobenzoesäure	0,013
Nikotinamidadenindinukleotid (NAD)	0,25
Thiaminpyrophosphat	0,1
Eisen (III)-nitrat	0,02
Thiaminhydrochlorid	0,003
Cysteinhydrochlorid	25,9
L-Cystin	1,1
Glucose	100,0

\*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 GEBRAUCHSANLEITUNGEN**). Platten 24 – 48 h in einer mit Kohlendioxid angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren.

Stämme	BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin	BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	Akzeptables bis gutes Wachstum; kleine transparente bis graue Kolonien.	Zufriedenstellendes Wachstum; transparente, kleine Kolonien; gutes bis sehr gutes Wachstum um auf dem Medium platzierte Faktor V-Streifen
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 6249	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Schokoladenbraun, opak	Rot (blutfarben)

## VERFAHREN

### Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

**BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin** oder **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin**, beide erhältlich als 90 mm **Stacker-Platten**). Mikrobiologisch kontrolliert.

### Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf; **BD Taxo Faktor V**-Streifen (nur für **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin**).

### Probenarten

Diese Medien sind für die Isolierung von *Haemophilus influenzae* aus Proben aus dem Atemtrakt, z.B. Rachenabstriche, oder anderen Proben mit normaler Flora, z.B. Konjunktivalabstriche, bestimmt (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

### Probenentnahme und Transport

*Haemophilus influenzae* ist anfällig für ungünstige Umgebungsbedingungen. Deshalb müssen für alle Proben geeignete Transportmedien verwendet werden. Die Proben müssen so schnell wie möglich ins Labor geschickt werden und dürfen nicht älter als 24 h sein, selbst wenn Transportmedien verwendet werden. Die optimale Transporttemperatur beträgt 20 – 25 °C. Nicht kühlen!

### Testverfahren

Probe möglichst bald nach Eingang im Labor ausstreichen. 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 ausstreichen. Ein Faktor V-Streifen kann nach der Inokulation auf **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin** platziert werden, um das Wachstum zu verbessern.

Platten 24 – 48 h in einer feuchten Umgebung inkubieren. Obwohl *H. influenzae* nicht auf eine erhöhte CO<sub>2</sub>-Konzentration angewiesen ist, kann die Inkubation in einem **BD GasPak**-Gefäß mit einer **BD GasPak** Kohlendioxid-Generatorhülle das Wachstum des Organismus steigern. Für die Isolierung aller in der Probe vorhandenen Agenzien sollte auch **BD Chocolate Agar (GC Agar mit IsoVitaleX)** oder **BD Chocolate Agar (Blut-Agar Nr. 2 Basis)** inokuliert werden.

### Ergebnisse

**BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin:** Nach 48 Stunden Inkubation, Platten auf transparente bis graue Kolonien mit einem Durchmesser von weniger als 2 mm überprüfen. Auch andere *Haemophilus*-Spezies als *H. influenzae* können auf diesem Medium wachsen.

**BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin:** Nach 48 Stunden Inkubation, Platten auf kleine, transparent Kolonien untersuchen. Das Wachstum von *H. influenzae* ist in der Umgebung von Faktor V-Streifen verstärkt. Andere *Haemophilus*-Spezies können auch ohne den Faktor V-Zusatz wachsen. *H. influenzae* ist nicht hämolytisch, während *H. haemolyticus* üblicherweise beta-hämolytisch ist.

Zusätzliche biochemische oder serologische Tests sind zur vollständigen Identifizierung der Isolate dieser Medien erforderlich.

## LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Diese Medien werden zur Isolierung von *Haemophilus influenzae* aus klinischen Proben aus Körperbereichen mit normaler Flora verwendet. Diese Medien dürfen nicht als Erstisolierungsmedien für *Haemophilus*-Spezies aus Hirnflüssigkeit oder Proben aus anderen primär sterilen Körperbereichen verwendet werden. Statt dessen sollte für diese Proben ein nicht selektives Medium, wie z.B. **BD Chocolate Agar (GC Agar mit IsoVitaleX)** oder **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)** verwendet werden.

Obwohl **BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin** und **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin** selektiv sind, können auch andere Organismen als *Haemophilus influenzae* wachsen. Die Medien hemmen die meisten Bakterien-Spezies der oralen Flora, sie haben jedoch keine vollständig hemmende Wirkung auf orale *Neisseria*-Spezies, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens* und gewisse Staphylokokken.

Gram-Färbungen und weitere biochemische und serologische Tests sind notwendig, um die Isolierung von *H. influenzae* oder anderer *Haemophilus*-Spezies zu bestätigen.

Gewisse *Haemophilus*-Stämme und –Spezies, einschließlich *H. influenzae* var. *aegyptius* (= *H. aegyptius*) und *H. ducreyi* werden bekanntlich von Bacitracin gehemmt und wachsen daher auch nicht auf diesen Medien.

Für die vollständige Isolierung aller vorhandenen Pathogene sollte auch ein nicht selektives Medium, wie z.B. **BD Chocolate Agar (GC Agar mit IsoVitaleX)** oder **BD Chocolate Agar (Blut-Agar Nr. 2 Basis)** mit der Probe inokuliert werden.

Da *Haemophilus*-Spezies ein üblicher Bestandteil der Flora des Atemtraktes darstellen, bedeutet ihr Vorhandensein in Proben aus dem oberen Atemtrakt, wie z.B. Rachenabstriche und Sputumproben, nicht notwendigerweise, dass diese Organismen auch die Ursache einer Infektion sind. Serologische Tests sind notwendig, um zu beweisen, dass das Isolat zu einer der Serogruppen gehört, welche oft Infektionen verursachen.<sup>1,2</sup>

## LITERATUR

1. Kilian, M. 2003. *Haemophilus*. 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. Mannheim, W. et al.: *Pasteurellaceae*. In: Mikrobiologische Diagnostik (ed. F. Burkhardt). Thieme Verlag, Stuttgart 1992.
3. Vastine, D.W., C.R. Dawson, I. Hoshiwara, C. Yonega, T. Daghfous, and M. Messadi. 1974. Comparison of media for the isolation of *Haemophilus* species from cases of seasonal conjunctivitis associated with severe endemic trachoma. Appl. Microbiol. 28:688-690.
4. Chapin, K., and G.V. Doern. 1983. Selective media for recovery of *Haemophilus influenzae* from species contaminated with upper respiratory tract microbial flora. J. Clin. Microbiol. 17:1163-1165.

## VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

### **BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin**

Best.-Nr. 254046                      Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

### **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin**

Best.-Nr. 256182                      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 all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD