

BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX) • BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)

VERWENDUNGSZWECK

BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX) (Schokoladenagar/ GC-II-Agar mit IsoVitaleX) und **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)** (Schokoladenagar/ Blutagar Nr. 2-Basis) sind nicht selektive Medien zur Kultivierung und Isolierung von anspruchsvollen Mikroorganismen, insbesondere *Neisseria*- und *Haemophilus*-Spezies aus einer Vielzahl von klinischen Proben.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Carpenter und Morton haben ein verbessertes Medium zur Isolierung von Gonokokken innerhalb von 24 h beschrieben.¹ Die Wirksamkeit dieses Mediums, GC-Agar ergänzt mit Hämoglobin und Hefekonzentrat, wurde in einer Studie mit zwölf zur Isolierung dieses Organismus verwendeten Medien demonstriert.² Später wurde das Medium noch mehrmals verbessert.³⁻⁵ In **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)** werden die Nährstoffe von der GC-II-Basis geliefert, welche Casein und hochwertige Fleischpeptone als Stickstoffquellen enthält, Phosphate zur Aufrechterhaltung des pH-Wertes und Maisstärke zur Neutralisierung von gegebenenfalls im Agar vorhandenen Fettsäuren. Hämoglobin liefert den Faktor X (Hämin). **BD IsoVitaleX Enrichment** (IsoVitaleX-Anreicherung) ist ein definiertes Supplement, welches den für die *Haemophilus*-Spezies unentbehrlichen Faktor V (Nikotinamidadenindinukleotid, NAD) liefert, sowie Vitamine, Aminosäuren, Coenzyme, Glucose, Eisen (III) und andere Faktoren, die das Wachstum von pathogenen *Neisseria* und anderen anspruchsvollen Organismen fördern. Pyridoxal und hochwertige Wachstumsfaktoren wurden beigefügt, um das Wachstum von grampositiven Bakterien zu verbessern und das Wachstum von *Granulicatella*- und *Abiotrophia*-Spezies (=Streptokokken mit unterschiedlichen Nährstoffanforderungen) zu fördern.⁶⁻⁹

Schokoladenagar (Blutagar Nr. 2-Basis) ist ein alternatives Medium zur Isolierung von anspruchsvollen Organismen aus klinischen Proben.⁷ **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)** enthält Proteose-Pepton, hepatisch abgebaute Substanzen und Hefeextrakt als Stickstoff- und Vitaminquellen. Natriumchlorid erhält das osmotische Gleichgewicht aufrecht. Erhitztes (Hitze-denaturiertes)Pferdeblut liefert den Faktor X (Häm) und, da es keine NADase enthält, auch den Faktor V (Nikotinamidadenindinukleotid, NAD), welcher für das Wachstum von *Haemophilus influenzae* benötigt wird, sowie zusätzliche Nährstoffe.

REAGENZIEN

Zusammensetzungen* pro Liter destilliertem Wasser

BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)		BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)	
Pankreatisch abgebautes Casein	7,5 g	Proteose-Pepton Nr. 3	15,0 g
Hochwertiges Fleischpepton	7,5	Leberextrakt	2,5
Maisstärke	1,0	Hefeextrakt	5,0
Dikaliumphosphat	4,0	Natriumchlorid	5,0
Kaliumdihydrogenphosphat	1,0	Pferdeblut (erhitzt)	7 %
Natriumchlorid	5,0	pH 7,4 +/- 0,2	
Agar	12,0		
Hämoglobin	10,0		
IsoVitaleX -Anreicherung	12,0 ml		
Pyridoxal	0,01 g		
Wachstumsfaktoren	0,5		
pH 7,2 ± 0,2			

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

BD IsoVitalex Anreicherung enthält die folgenden Wachstumsfaktoren (Zusammensetzung* pro Liter destilliertem Wasser):

Vitamin B ₁₂	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 GEBRAUCHSANLEITUNG**). Platten bei 35 ± 2 °C in einer mit Kohlendioxid angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren. Platten nach 18 – 24 h sowie nach 42 – 48 h Inkubation ablesen.

Stämme*	BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalex) und BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	Gutes bis sehr gutes Wachstum
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	Mittleres bis sehr gutes Wachstum
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Gutes bis sehr gutes Wachstum
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Gutes bis sehr gutes Wachstum
Nicht inokuliert	Schokoladenbraun, opak, möglicherweise leicht inhomogen

*Zusätzlich kann **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalex)** auch mit *Granulicatella (Abiotrophia) adiacens* DSM 9848 getestet werden, um das Wachstum von Streptokokken mit unterschiedlichen Nährstoffanforderungen nachzuweisen.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Chocolate Agar (GC Agar mit IsoVitalex) oder **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)**, beide erhältlich als 90 mm **Stacker-Platten**. Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Diese Medien können grundsätzlich für alle Arten von Proben von Infektionen mit Verdacht auf anspruchsvolle Organismen verwendet werden, besonders, aber nicht ausschließlich, für Proben aus primär sterilen Körperbereichen (z.B. Hirnflüssigkeit, Abszesse). Ihr Hauptanwendungsbereich ist die nicht selektive Isolierung von *Neisseria*, *Haemophilus* und anderen Bakterien, welche möglicherweise auf routinemäßig verwendeten Blutagarmedien, wie z.B. Columbia-Agar mit 5 % Schafblut, nicht wachsen. Zusätzlich kann **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)** auch zur Isolierung von *Abiotrophia*- und *Globicatella*-Spezies (=Streptokokken mit unterschiedlichen Nährstoffanforderungen) verwendet werden.^{8,9} Die Medien werden auch als Subkulturmedien von Blutkulturen verwendet (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

Probenentnahme und Transport

Neisseria gonorrhoeae, *N. meningitidis*, *Haemophilus* und andere anspruchsvolle Organismen sind 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!^{10,11}

Testverfahren

Proben sofort nach Erhalt im Labor auf **BD Chocolate Agar (GC Agar mit IsoVitaleX)** oder **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)** 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.

Wenn die Probe aus einem Körperbereich mit normaler Flora entnommen wurde, sollte sie, je nach dem zu isolierenden pathogenen Agens, auch auf ein passendes selektives Medium inokuliert werden. Für *Neisseria gonorrhoeae* sollte eine **BD Martin-Lewis Agar, modified-** oder **BD GC-Lect Agar**-Platte und für *Haemophilus* eine **BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin**-Platte miteinbezogen werden.

Platten bei 35 ± 2 °C in einer mit Kohlendioxid angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren. Platten nach 18 – 24 h sowie nach 42 – 48 h Inkubation ablesen.

Ergebnisse

Das Medium weist typischerweise die folgende Koloniemorphologie auf:

Organismen	BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX) und BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)
<i>Haemophilus influenzae</i>	Klein (1 mm), feucht, perlmuttglänzend mit einem charakteristischen „Mausgeruch“
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Klein, gräulich-weiß bis farblos, mukoid
<i>Neisseria meningitidis</i>	Mittelgroß bis groß, blaugrau, mukoid
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Kleine, flache oder größere, mukoide grünliche Kolonien, Medium um die Kolonien kann grünlich sein
<i>Granulicatella (Abiotrophia) adiacens*</i>	Kleine, grau-grünliche Kolonien, Medium um die Kolonien kann grünlich sein

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX) und **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)** sind angereicherte, nicht selektive Medien, auf welchen anspruchsvolle und nicht anspruchsvolle Bakterien, einschließlich normaler Flora, wachsen. Es wird deshalb empfohlen, die Proben aus Körperbereichen mit normaler Flora auch auf ein geeignetes selektives Medium zu inokulieren.

Der Begriff „anspruchsvolle Bakterien“ bezieht sich auf Bakterien die nicht oder nicht gut auf den üblicherweise verwendeten Erstisolierungs-Medien mit Schafblut wachsen, z.B. *Haemophilus*, pathogene *Neisseria* und einige andere Organismen. Für detailliertere Beschreibungen der auf diesen Medien zu inokulierenden Probenarten und der Arten von

Organismen, welche mit diesen Medien isoliert werden können, sollten die Literaturhinweise hinzugezogen werden.^{8,9,11,12}

Es gibt eine hohe Anzahl und zahlreiche Arten bakterieller Spezies, die Infektionskrankheiten hervorrufen. Bevor diese Medien routinemäßig für selten isolierte oder neu beschriebene Mikroorganismen verwendet werden, muss ihre Eignung daher zunächst durch den Anwender anhand der Kultivierung von Reinkulturen des betreffenden Organismus getestet werden.

BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base) wurde nicht auf Wachstumsförderung von *Abiotrophia*-Spezies und anderer Streptokokken mit unterschiedlichen Nährstoffanforderungen getestet.

Für die Beschreibung von Streptokokken mit unterschiedlichen Nährstoffanforderungen sollten die Literaturhinweise hinzugezogen werden.^{6,8,9,13}

LITERATUR

1. Carpenter, C.M., and H.E. Morton. 1947. An improved medium for isolation of the gonococcus in 24 hours. Proc. N.Y. State Assoc. Public Health Labs. 27:58-60.
2. Carpenter, C.M., M.A. Bucca, T.C. Buck, E.P. Casman, C.W. Christensen, E. Crowe, R. Drew, J. Hill, C.E. Lankford, H.E. Morton, L.R. Peizer, C.I. Shaw, and J.D. Thayer. 1949. Evaluation of twelve media for the isolation of the gonococcus. Am. J. Syphil. Gonorrh. Venereal Diseases 33:164-176.
3. Power, D.A. (ed.), and P.J. McCuen. 1988. Manual of BBL products and laboratory procedures, 6th ed. Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeys ville, Md.
4. Martin, J.E., T.E. Billings, J.F. Hackney, and J.D. Thayer. 1967. Primary isolation of *N. gonorrhoeae* with a new commercial medium. Public Health Rep. 82:361-363.
5. 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.
6. Ruoff, L.R. 2003. *Aerococcus*, *Abiotrophia*, and other infrequently isolated aerobic catalase-negative, gram-positive cocci. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Anonymous. 1998. DIFCO Manual, 11th edition. DIFCO Laboratories, Division of Becton Dickinson and Co. Sparks, MD, USA.
8. Reimer, L.G., and L.B. Reller. 1981. Growth of nutritionally variant streptococci on common laboratory and 10 commercial blood culture media. J. Clin. Microbiol. 14:329-332.
9. Collins, M.D., and P.A. Lawson. 2000. The genus *Abiotrophia* (Kawamura et al.) is not monophyletic: proposal of *Granulicatella gen. nov.*, *Granulicatella adiacens comb. nov.*, *Granulicatella elegans comb. nov.* and *Granulicatella balaenopterae comb. nov.* Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 365-369.
10. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: 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.
11. Forbes, B.A., and P.A. Granato. 1995. Processing specimens for bacteria. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Ruoff, K.L. 2003. *Aerococcus*, *Abiotrophia*, and other infrequently isolated aerobic catalase-negative, gram-positive cocci. 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 Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)

Best.-Nr. 254060

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

Best.-Nr. 254089

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 120 Platten

BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)

Best.-Nr. 257011

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

Best.-Nr. 257456

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 120 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