

BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood

VERWENDUNGSZWECK

BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood (BD Gardnerella-Selektiv-Agar mit 5 % Humanblut) ist ein teilweise selektives Differenzierungsmedium zur Isolierung von *Gardnerella vaginalis* aus klinischen Proben.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Gardnerella vaginalis gilt als einer der Organismen, die Vaginitis verursachen.¹⁻⁴ Obwohl der Organismus bei einem hohen Prozentsatz gesunder Frauen in der Scheidenflora vorhanden sein kann, gilt seine Bedeutung als Ursache von nicht spezifischer Vaginitis (auch bakterielle Vaginose genannt) als gesichert. Bei Frauen mit den typischen Symptomen tritt *G. vaginalis* häufig zusammen mit Anaerobiern, wie z.B. *Prevotella bivia*, *P. disiens*, *Mobiluncus*, *Peptostreptococcus*, und/oder anderen Organismen auf, welche zwar einen regulären Bestandteil der Harnröhren- oder Darmflora bilden, nicht aber der Scheidenflora. Bei nicht spezifischer Vaginitis ist die normale *Lactobacillus*-Flora reduziert oder nicht vorhanden. *Gardnerella vaginalis* gilt als der Indikator-Organismus für nicht spezifische Vaginitis, welche tatsächlich eine durch mehrere Mikroorganismen hervorgerufene Infektion ist.^{3,4} Obwohl Methoden ohne Kultivierung, wie z.B. direkte Gramfärbung, in den letzten Jahren für Genitalproben empfohlen wurden, wird eine Kultivierung noch immer von vielen Labors bevorzugt.^{1,5} *G. vaginalis* kann auch die Ursache für eine Vielzahl weiterer Krankheiten sein, wie z.B. Frühgeburten, Chorioamnionitis, Harninfektionen, Infektionen bei Neugeborenen und Sepsis.⁶

Der Nachweis des Organismus auf routinemäßig verwendeten Medien ist schwierig, da *Gardnerella* und andere Bakterien, wie z.B. Lactobazillen und Streptokokken, auf Schafblut enthaltenden Medien eine Alpha-Hämolyse produzieren können. Auf Medien mit Humanblut produziert *Gardnerella vaginalis* jedoch eine charakteristische Beta-Hämolyse.^{1,7-9} Da *Gardnerella vaginalis*, obwohl häufig als gramnegativ betrachtet, ein grampositives Bakterium ist, kann es auf Medien mit Colistin und Nalixinsäure selektiert werden.^{1,10,11}

BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood basiert auf Columbia-CNA-Agar, welcher die Nährstoffe und die Inhibitoren Colistin und Nalidixinsäure zur Hemmung von gramnegativen, nicht aber grampositiven Bakterien liefert. Das Medium wurde mit Proteose-Pepton angereichert, um das Wachstum von *Gardnerella* zu verbessern. Amphotericin B wurde beigefügt, um das Wachstum von Hefen (z.B. *Candida*) zu reduzieren, welche ebenfalls häufig in vaginalen Proben vorhanden sind. Humanblut wurde als Nährstoff und zum Nachweis der charakteristischen, diffusen Beta-Hämolyse des Organismus beigegeben.

REAGENZIEN

BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	12,0 g	Natriumchlorid	5,0 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	5,0	Agar	13,5
Proteose-Pepton	10,0	Colistin	0,01
Hefeextrakt	3,0	Nalidixinsäure	0,01
Rindfleischextrakt	3,0	Amphotericin B	0,004
Maisstärke	1,0	Humanblut, defibriniert	5 %

pH 7,3 ± 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.

WARNHINWEIS:



Enthält potentiell biogefährliches Material. Das zur Zubereitung dieses Mediums verwendete Humanblut wurde auf Vorhandensein von HIV, HbsAg und anderen Typen von Hepatitis getestet. Dazu wurden die selben Kriterien und Methoden angewendet, wie sie von Blutbanken zur Überprüfung von Humanblut für Transfusionen verwendet werden. Das Blut wurde als nicht reaktiv befunden. Da keines der gegenwärtig bekannten Testverfahren das Vorhandensein von HIV, Hepatitis und anderen infektiöser Erreger vollständig ausschließen kann, sollten Proben und dieses Medium als potentiell infektiös gehandhabt werden. Es wird deshalb empfohlen, das Medium unter Berücksichtigung von Biosafety Level 2 (biologische Sicherheitsstufe 2) zu behandeln.

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 in einer mit Kohlendioxid angereicherten Atmosphäre 48 – 72 h bei 35 – 37 °C inkubieren. Als Alternative kann das inokulierte Medium auch in einer mikroaeroben Atmosphäre inkubiert werden, z.B. mit dem **BD CampyPak** System.

Stämme	Testergebnisse
<i>Gardnerella vaginalis</i> ATCC 14018	Gutes bis sehr gutes Wachstum; kleine grauweiße Kolonien, umgeben von einer diffusen Beta-Hämolyse
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum; kein Schwärmen
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Rot (blutfarben)

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood (90 mm **Stacker**-Platten).

Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Vaginalabstriche oder andere Proben mit Verdacht auf *G. vaginalis* sind geeignet. Idealerweise sollten zwei Abstriche gemacht werden, einer zur Kultivierung und einer für eine direkte Gramfärbung. Ein geeignetes Transportmedium (z.B. **BD Port-A-Cul**) muss verwendet werden,

wenn die Proben nicht sofort verarbeitet werden (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

Testverfahren

Proben unter Anwendung mittels Verdünnungsausstrich auf **BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood** ausstreichen. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** sollte ebenfalls inokuliert werden. Beide Platten 48 – 72 h in einer mit CO₂ angereicherten Atmosphäre bei 36 °C ± 2 °C inkubieren. Außerdem sollte eine direkte Gramfärbung von allen Vaginalproben durchgeführt werden.^{1,2,5}

Ergebnisse

Nach der Inkubation, **BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood** auf das Vorhandensein von kleinen bis mittelgroßen Kolonien untersuchen, welche von einer diffusen Beta-Hämolyse umgeben sind. Das Ergebnis mit dem Wachstum auf der **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**-Platte vergleichen. Wenn die beta-hämolytischen Kolonien nur auf dem selektiven *Gardnerella*-Medium erscheinen, ist das Vorhandensein von *G. vaginalis* sehr wahrscheinlich. Wenn die beta-hämolytischen Kolonien auf beiden Medien erscheinen, muss durch eine Gramfärbung sichergestellt werden, dass der Organismus auf dem selektiven *Gardnerella*-Medium ein gramvariables, kleines, diphtheroides Stäbchen ist. Das Vorhandensein von Kokken in der Gramfärbung einer beta-hämolytischen Kolonie auf **BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood** zeigt an, dass es sich bei den isolierten Organismen entweder um beta-hämolytische Streptokokken oder Staphylokokken handelt, jedoch nicht um *G. vaginalis*. Alpha-hämolytische und nicht hämolytische Kolonien können ignoriert werden. Auf Medien mit Schafblut produziert *Gardnerella* kleine, alpha- oder nicht-hämolytische Kolonien. Im Falle einer gemischten Kultur mit anderen beta-hämolytischen Organismen, sollten schließlich von isolierten Kolonien von **BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood** nochmals auf beiden Medien Subkulturen angelegt und wie oben beschrieben inkubiert werden. Zur vollständigen Identifizierung der Isolate sind weitere biochemische Tests notwendig. Die Literaturhinweise sind zu beachten.^{1,7,9}

In der direkten Gramfärbung von Vaginalproben sind "Clue-cells" ("Schlüssel-Zellen" =vaginale Epithelzellen, übersät mit einer Masse von kurzen, gramvariablen Stäbchen) sichtbar, falls die Patientin an bakterieller Vaginose leidet.^{1,5}

Interpretation der Ergebnisse

Wenn *G. vaginalis* aus Vaginalproben isoliert wurde, muss die daraus folgende Diagnose sorgfältig mit den subjektiven und objektiven klinischen Symptomen verglichen werden. Wenn *Gardnerella* die Ursache von bakterieller Vaginose ist, klagen die Patientinnen typischerweise über verstärkten, übelriechenden Ausfluss. Der pH-Wert des Vaginalsekrets beträgt >4,5 und in der Gramfärbung sind "Schlüssel-Zellen" vorhanden. Für Einzelheiten sind die Literaturhinweise zu beachten.^{1-3,5}

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood ist ein teilweise selektives Medium zur Isolierung von *Gardnerella vaginalis*.^{4,11} *G. vaginalis* produziert auf dem Medium mit Humanblut beta-hämolytische Kolonien, und alpha-hämolytische Kolonien auf Medien mit Schafblut.

BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood hat auf andere grampositive Organismen, wie z.B. Streptokokken, Staphylokokken oder *Listeria*, welche auf Medien mit Humanblut eine Beta-Hämolyse produzieren oder nicht produzieren und auch in Vaginalproben vorhanden sein können, keine hemmende Wirkung. Deshalb sind mikroskopische und biochemische Tests notwendig, um die Identität eines Isolates als *G. vaginalis* zu bestätigen. Das Vorhandensein von *G. vaginalis* in einer Vaginalprobe deutet nicht zwangsläufig darauf hin, dass der isolierte Organismus auch die Ursache einer Infektion ist.

BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood nicht zum Nachweis von hämolytischen Reaktionen anderer Organismen als *Gardnerella vaginalis* verwenden.

LITERATUR

1. Clarridge, J.E., and C.A. Spiegel. 1995. *Corynebacterium* and miscellaneous irregular gram-positive rods, *Erysipelothrix*, and *Gardnerella*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Spiegel, C.A. 1991. Bacterial vaginosis. Clin. Microbiol. Rev. 4: 485-502.
3. Hammann, R., Lang, N., and H. Werner. 1984. Die Rolle von *Gardnerella vaginalis* und Anaerobiern – Ätiologie der unspezifischen Kolpitis. Fortschr. Med. 102: 255-258.
4. Hammann, R., A. Kronibus, N. Lang, and H. Werner. 1987. Quantitative studies on the vaginal flora of asymptomatic women and patients with vaginitis and vaginosis. Zbl. Bakt. A 265: 451-461.
5. Spiegel, C.A., Amsel, R., and K.K. Holmes. 1983. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct Gram stain of vaginal fluid. J. Clin. Microbiol. 18: 170-177.
6. Martius, J., and D.A. Eschenbach. 1990. The role of bacterial vaginosis as a cause of amniotic fluid infection, chorioamnionitis and prematurity – a review. Arch. Gynecol. Obstet. 247: 1-13.
7. Greenwood, J.R. et al. 1977. *Haemophilus vaginalis* (*Corynebacterium vaginae*) method for isolation and rapid biochemical identification. Health Lab. Sci. 14: 102
8. Kretzschmar, U.M., R. Hammann, H.J. Kutzner. 1991. Purification and characterization of *Gardnerella vaginalis* hemolysin. Curr. Microbiol. 23: 7-13.
9. Piot, P., et al. 1982. Identification of *Gardnerella* (*Haemophilus*) *vaginalis*. J. Clin. Microbiol. 15: 19-24.
10. Harper, J.J, and G.H.G. Davis. 1982. Cell wall analysis of *Gardnerella vaginalis* (*Haemophilus vaginalis*). Int. J. Syst. Bacteriol. 32: 48-50.
11. Goldberg, R.L. and J.A. Washington II. 1976. Comparison of isolation of *Haemophilus vaginalis* (*Corynebacterium vaginae*) from Peptone-Starch-Dextrose Agar and Columbia Colistin-Nalidixic Acid Agar. J. Clin. Microbiol. 4: 245.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood

Best.-Nr. 254094

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