



BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium • BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar

VERWENDUNGSZWECK

BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium (BD Campylobacter Blutfreies Selektivmedium) und **BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar** (BD Campylobacter Blutfreier CTA-Agar) sind selektive Medien zur Isolierung von *Campylobacter*-Spezies aus Darm- und anderen Proben. **BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar** wird auch für die Isolierung von *Arcobacter*-Spezies verwendet.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Es hat sich gezeigt, dass *Campylobacter* wichtige pathogene Spezies umfasst, welche Darminfektionen verursachen, wie z.B. Durchfall oder akute Gastroenteritis.^{1,2} In ländlichen Gegenden und weniger entwickelten Ländern, treten *Campylobacter* als Darmbakterien häufiger auf, als *Salmonella*. Die am häufigsten isolierte Spezies ist *Campylobacter jejuni*, während *C. coli*, *C. lari* und andere Spezies seltener vorkommen, *Arcobacter* ist ein Genus, der für sauerstofftolerante *Campylobacter*-ähnliche Organismen geschaffen wurde.^{2,3} Obwohl *Arcobacter* häufig aus tierischen Quellen isoliert wird, sind Infektionen von Menschen mit *Arcobacter* noch immer selten.⁴⁻⁶

Für die Isolierung von *Campylobacter* wurden mehrere selektive Medien entwickelt. Die frühen Medien enthalten alle Blut, welches zur Absorption von Radikalen und Peroxiden notwendig ist, die auf die mikroaerophilen *Campylobacter* eine hemmende Wirkung haben können. Später wurden Ersatzsubstanzen für das Blut entwickelt, welches für diese Organismen keinen notwendigen Nährstoff darstellt.^{1,2,7,8} Vergleichende Studien mit selektiven Medien mit und ohne Blut für *Campylobacter* haben gezeigt, dass blutfreie Medien mit Aktivkohle den blutenthaltenden Medien überlegen sind und die Sauerstofftoleranz dieser Organismen erhöhen.^{1,4} Antimikrobielle Agenzien werden einzeln oder kombiniert eingesetzt, um die begleitende Flora zu hemmen. Bolton und Mitarbeiter entwickelten eine Kombination aus Desoxycholat und Cefoperazon, die erwiesenermaßen die meisten Organismen der normalen Flora hemmt, während sie auf *C. jejuni*, *C. fetus*, *C. coli* und *C. lari* keine hemmende Wirkung hat.⁷

Während **BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium** eine Standardrezeptur ist, wird **BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar** von Aspinal als Medium zur Isolierung von thermophilen *Campylobacter* und *C. upsaliensis* beschrieben.⁸ In einer kürzlich durchgeführten Studie wurde gezeigt, dass das Cefoperazon-Amphotericin-Teichplanin-Supplement auf *Arcobacter*-Spezies (früher *Campylobacter cryaerophilus* und andere sauerstofftolerante *Campylobacter*) keine hemmende Wirkung zeigt und deshalb in Medien auf Aktivkohlebasis zur Isolierung von *Arcobacter* eingesetzt werden kann.⁹

In **BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium** und **BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar** werden Rindfleischextrakt und zwei verschiedene Peptone als Stickstoffquellen verwendet. Die Kombination aus Aktivkohle, Eisen(II)-Sulfat und Natriumpyruvat wird als Ersatz für Blut verwendet.^{1,2,7} Aktivkohle wirkt als Absorbens für viele toxische Verbindungen, während Eisen(II)-Sulfat und Pyruvat als chemische Reduktionsmittel wirken. Desoxycholat und Cefoperazon werden zur Hemmung der normalen Darmflora verwendet. Amphotericin B wurde **BD Campylobacter Bloodfree CRA Agar** beigefügt, um die Selektivität gegen Pilze zu erhöhen, wie ursprünglich von Bolton et al. beschrieben.⁷ Während die Autoren 5 mg Amphotericin pro Liter (CCDA-Medium) beifügten, enthält die hier beschriebene Zusammensetzung 10 mg Amphotericin B, da ein Großteil des Amphotericins durch die Aktivkohle im Medium deaktiviert wird und deshalb Pilze nicht hemmt.

Die Modifikation mit 10 mg führt zu einer leicht verbesserten Pilzhemmung, obwohl die Hemmung noch immer unvollständig ist. Die Cefoperazon-Konzentration in **BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar** wurde reduziert, um das Wachstum von *C. upsaliensis* und *Arcobacter*-Spezies zu fördern.⁹

REAGENZIEN

BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium und BD Campylobacter Bloodfree CTA

Agar enthalten das folgende Basismedium:

Zusammensetzung* pro Liter destilliertem Wasser

| | |
|---------------------|--------|
| Rindfleischextrakt | 10,0 g |
| Pepton | 10,0 |
| Natriumchlorid | 5,0 |
| Aktivkohle | 4,0 |
| Caseinhydrolysat | 3,0 |
| Natriumdesoxycholat | 1,0 |
| Eisen(II)-Sulfat | 0,25 |
| Natriumpyruvat | 0,25 |
| Agar | 12,0 |

pH 7,4 ± 0,2

Zusätzlich zu diesem Basismedium, welches beide Medien gemeinsam haben, wurden die folgenden antimikrobiellen Substanzen als selektive Agenzien beigefügt:

| Selektive Agenzien | BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium | BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar |
|--------------------|---|-------------------------------------|
| Cefoperazon | 32,0 mg/l | 8,0 mg/l |
| Amphotericin B | - | 10,0 mg/l |
| Teicoplanin | - | 4,0 mg/l |

*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 42-48 h bei 35 – 37 °C in einer mikroaeroben Atmosphäre (z.B. in einem **BD GasPak 100**-Topf mit **BD CampyPak**-Gasentwickler und Katalysatorkammer) inkubieren.

| Stämme | BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium und BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar |
|--|--|
| <i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> ATCC 33291 | Wachstum; graue Kolonien, mögliches Ausbreiten |

| | |
|---|--|
| <i>Campylobacter fetus</i> DSM 5361 | Wachstum; graue Kolonien |
| <i>C. lari</i> NCTC 11352 | Wachstum; graue Kolonien |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 | Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum |
| <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153 | Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum |
| Nicht inokuliert | Glänzend schwarz |

Hemmung von Pilzen: Auf **BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium** wird das Wachstum von Pilzen nicht gehemmt. Auf **BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium** wird das Wachstum von Pilzen teilweise gehemmt.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium oder **BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar**, beide als 90 mm **Stacker-Platten** erhältlich. Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Frische Stuhlproben oder Rektalabstriche von Patienten mit Verdacht auf Infektion durch *Campylobacter*-Spezies bzw. Fleisch- oder andere Lebensmittelproben (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Stuhlproben, Abstriche und Nahrungsmittelproben sollten nicht älter als 24 – 48 h sein. Abstriche in ein geeignetes Transportmedium geben (z.B. Cary-Blair-Medium).² Falls sie nicht sofort weiterverarbeitet werden, müssen Proben bei 3-8 °C in einem geeigneten Transportmedium aufbewahrt werden. Austrocknung und Sauerstoffexposition verhindern.

Testverfahren

Die Proben zur Isolierung möglichst bald nach Ankunft im Labor auf **BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium** oder **BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar** ausstreichen. Fleisch oder andere Nahrungsmittel sollten zuerst gehackt oder homogenisiert und dann direkt oder nach Suspension in einer kleinen Menge Pepton-Bouillon auf das Medium inokuliert werden.

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. Die Anwendung einer speziellen Filtriermethode zur Verarbeitung der Proben und die Inokulierung von selektiven und nicht selektiven Medien wurden beschrieben.^{2,4}

Inokulierte Platten lichtgeschützt bei 35 ± 2° oder 42 ± 2 °C in einer sauerstoffarmen, mit Kohlendioxid angereicherten (= mikroaeroben) Atmosphäre inkubieren. Die Inkubation bei 42 °C kann das Wachstum von *Campylobacter jejuni ssp. doylei* und einer Vielzahl anderer Spezies hemmen. Für die Isolierung von *Arcobacter*-Spezies ist eine Inkubationstemperatur von 28 – 32 °C zu bevorzugen.^{3,10} Die meisten auf diesen Medien isolierten Organismen wachsen am besten bei 35 ± 2 °C. Die mikroaerobe Atmosphäre kann durch die Verwendung von **BD CampyPak** (mit Katalysator) oder **CampyPak Plus** Einmal-Gasentwicklern in **BD GasPak**-Töpfen oder unter Verwendung eines **BD Campy Pouch**-Systems erzielt werden. Alternativ hierzu kann die Atmosphäre auch mit evakuierbaren **BD GasPak**-Töpfen und Ersatz der Luft durch entsprechende Flaschengase erzielt werden.

Eine Inkubationszeit von 2 – 3 Tagen ist gewöhnlich ausreichend, jedoch hat sich gezeigt, dass eine Inkubationszeit von 5 – 7 Tagen die Isolierungsraten erhöht.^{2,4}

Ergebnisse

Nach 42 – 48 h Inkubation in einer mikroaeroben Atmosphäre werden die Platten auf die typischen *Campylobacter*-Kolonien untersucht. Frische Isolate, insbesondere von *C. jejuni*, neigen auf diesen und anderen Medien für *Campylobacter* zum Schwärmen, während andere *Campylobacter*-Spezies konvexe Kolonien produzieren können. Ein positiver Oxidase-Test und eine Gramfärbung mit gebogenen bis flügelförmigen gramnegativen Stäbchen sind weitere Anzeichen für eine erfolgreiche Isolierung. Zur Bestätigung der Identifizierung sind weitere Tests notwendig.^{1,2,3,10}

Die beiden hier beschriebenen Medien differenzieren nicht zwischen *Arcobacter*- und *Campylobacter*-Spezies. Wenn das Vorhandensein von *Arcobacter* vermutet wird, sollten die Isolate auf einem Blutagar, wie z.B. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (Columbia-Agar mit 5 % Schafblut), subkultiviert und aerob bei 25 – 32 °C inkubiert werden. *Campylobacter*-Spezies wachsen nicht in einer Umgebungsatmosphäre, während *Arcobacter*-Spezies sauerstofftolerant sind.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium und **BD Campylobacter CTA Agar** sind anerkannte Medien zur Isolierung von *Campylobacter*-Spezies aus menschlichen Stuhlproben und nicht klinischen Materialien, wie z.B. Fleisch und andere Nahrungsmittel. Die Rezeptur von **BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar** wurde in mehreren Studien zur Isolierung von *Arcobacter* empfohlen.^{2,3,7} Die Epidemiologie und die klinische Bedeutung von *Arcobacter* wurde jedoch noch nicht vollständig geklärt, obwohl diese bisher nur selten aus menschlichen Stuhlproben und Proben von Patienten mit Sepsis isoliert worden sind.^{5,6,10}

BD Campylobacter Bloodfree Selective Medium wirkt hemmend auf *Arcobacter cryaerophilus* und *A. skirrowii*.⁹

Eine spezielle Filtriermethode zur Isolierung von *Campylobacter*-Spezies ist beschrieben worden.^{2,4} Kombiniert mit nicht selektiven Isolierungsmedien ist diese Methode besonders hilfreich für die Isolierung von *C. upsaliensis*.^{2,4}

Die beiden hier beschriebenen Medien differenzieren nicht zwischen *Arcobacter*- und *Campylobacter*-Spezies (siehe auch **Ergebnisse**). Zur vollständigen Identifizierung der Isolate sind weitere Tests notwendig.^{1,2,3,10}

Andere Bakterien als *Campylobacter* oder *Arcobacter* können auf diesen Medien wachsen, falls sie gegen die enthaltenen selektiven Bestandteile resistent sind.

Obwohl **BD Campylobacter Bloodfree CTA Agar** ein Antimykotikum enthält, werden Hefen und Schimmelpilze auf Grund der Neutralisierung der in diesem Medium enthaltenen Aktivkohle durch Amphotericin B nur teilweise gehemmt.

Diese Medien dürfen nicht zur Subkultivierung von Blutkulturen mit Verdacht auf *Campylobacter* oder *Arcobacter* verwendet werden. Stattdessen muss **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** oder eine andere nicht selektive Blut- oder Schokoladenagar-Platte verwendet und in einer mikroaeroben Atmosphäre bei 32 – 37 °C inkubiert werden.

Die Anzahl der als Infektionserreger auftretenden *Campylobacter*-Spezies und der verwandten Organismen ist groß, und ihre Empfindlichkeit gegenüber den als Inhibitoren in Isolierungsmedien verwendeten antimikrobiellen Agenzien variiert. Außerdem benötigen diese Organismen gegebenenfalls eine unterschiedliche Inkubationstemperatur, um zu wachsen. Die Inokulierung von mehreren verschiedenen selektiven Isolierungsmedien und Inkubation bei unterschiedlichen Temperaturen kann notwendig sein.² Bevor ein Medium routinemäßig für selten isolierte oder neu beschriebene Organismen verwendet wird, muss seine Eignung daher zunächst durch den Anwender anhand der Kultivierung von Reinkulturen des betreffenden Organismus getestet werden.

LITERATUR

1. Nachamkin, I., Blaser, M.J., and L.S. Thompkins. 1992. *Campylobacter jejuni*: current status and future trends. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Nachamkin, I. 2003. *Campylobacter* and *Arcobacter*. 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.

3. Vandamme, P.M. et al. 1992. Polyphasic taxonomic study of the emended genus *Arcobacter* with *Arcobacter butzleri* comb. nov. and *Arcobacter skirrowii* sp. nov., an aerotolerant bacterium isolated from veterinary specimens. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42: 344-356.
4. Engberg, J. et al. 2000. Prevalence of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, and *Sutterella* spp. in human fecal samples as estimated by a reevaluation of isolation methods for campylobacters. *J. Clin. Microbiol.* 38: 286-291.
5. Lerner, J., Brumberger, V., and V. Preac-Mursic. 1994. Severe diarrhea associated with *Arcobacter butzleri*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 13: 660-662.
6. Hsueh, P.-R., et al. 1997. Bacteremia caused by *Arcobacter cryaerophilus* 1B. *J. Clin. Microbiol.* 35: 489-491.
7. Bolton, F.J., Hutchinson, D.N., and D. Coates. 1984. Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. *J. Clin. Microbiol.* 19: 169-171.
8. Aspinal, S.T. et al. 1993. Selective medium for thermophilic campylobacters including *Campylobacter upsaliensis*. *J. Clin. Pathol.* 46: 829-831.
9. Houf, K. et al. 2001. Susceptibility of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus*, and *Arcobacter skirrowii* to antimicrobial agents used in selective media. *J. Clin. Microbiol.* 38: 1654-1656.
10. Kielbauch, J.A. et al. 1991. *Campylobacter butzleri* sp. nov. isolated from humans and animals with diarrheal disease. *J. Clin. Microbiol.* 29: 376-385.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD *Campylobacter* Bloodfree Selective Medium

Best.-Nr. 254403 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten
 Best.-Nr. 254095 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 120 Platten

BD *Campylobacter* Bloodfree CTA Agar

Best.-Nr. 254491 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten
 Best.-Nr. 254571 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. © 2012 BD