

Bordetella-Selektivnährboden

[Regan-Lowe-(RL-)Nährboden, modifiziert]

Zum Nachweis und zur Isolierung von *Bordetella pertussis* und *B. parapertussis*.

Kohle-Blutagar-Basis

Art.-Nr. CM 119

| Typische Zusammensetzung | (g/l) |
|----------------------------|-------|
| Fleischextrakt 'Lab-Lemco' | 10,0 |
| Pepton | 10,0 |
| Stärke | 10,0 |
| Bakteriologische Kohle | 4,0 |
| Natriumchlorid | 5,0 |
| Nikotinsäure | 0,001 |
| Agar | 12,0 |
| pH 7,4 ± 0,2 | |

Bordetella-Selektiv-Supplement

Art.-Nr. SR 82

| Zusammensetzung je Röhrrchen (1 Röhrrchen je 500 ml) | |
|---|-------|
| Cephalexin | 20 mg |

Zubereitung

25,5 g Kohle-Blutagar-Basis in 500 ml Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren und auf 50°C abkühlen. Einem Röhrrchen Bordetella-Selektiv-Supplement aseptisch 2 ml steriles Aqua dest. zufügen und den Inhalt vollständig lösen. Zu 500 ml steriler, abgekühlter Kohle-Blutagar-Basis aseptisch 10% (v/v) defibriertes Pferdeblut (OXOID, Art.-Nr. SR 50) und den gelösten Inhalt eines Röhrrchens Bordetella-Selektiv-Supplement zugeben. Gut mischen und Platten gießen.

Transportnährboden für *B. pertussis*

Den gelösten Inhalt eines Röhrrchens Bordetella-Selektiv-Supplement und 10% defibriertes Pferdeblut (OXOID, Art.-Nr. SR 50) zu 500 ml halbkonzentrierter steriler, auf 50°C abgekühlter Kohle-Blutagar-Basis geben.

Beschreibung

Nach Bradford und Slavin¹ waren unzulängliche Ergebnisse bei der Kultivierung von *Bordetella pertussis* aus postnasalen Abstrichen weniger auf die Abwesenheit von *B. pertussis* als vielmehr auf ein Überwachsen durch Begleitorganismen zurückzuführen. Lacey² konnte dies bestätigen: Er beschrieb, daß der Nachweis von *B. pertussis* sogar mit Penicillin-Zusatz (0,25 IE/ml)³ oft langwierig und problematisch war, weil die Penicillin-unempfindliche Flora überwucherte.

Lacey² fand heraus, daß die Kombination von M&B 938 (12 µg/ml; 4,4'-Diamidinodiphenylamin-dihydrochlorid) und Penicillin die Selektivität erhöhten. M&B 938 hemm-

te alle Penicillin-unempfindlichen *Haemophilus influenzae*, Neisserien und Staphylokokken, Penicillin hemmte Streptokokken und "Diphtheroide", die gegen M&B 938 resistent waren. Gleichzeitig stiegen die Isolierungsraten von *B. pertussis*. Sutcliffe und Abbott zeigten in einer früheren Veröffentlichung³, daß Cephalexin (40 µg/ml) wirksamer als Penicillin ist. Die Vorzüge von Cephalexin als selektives Agens bei der Isolierung von *B. pertussis* wurden in mehreren Veröffentlichungen bestätigt⁴⁻⁸. Regan und Lowe⁴ setzten der Kohle-Blutagar-Basis Cephalexin (40 µg/ml) statt M&B 938/Penicillin zu. Dadurch erhöhte sich die Selektivität weiter; die Ausbeute an Bordetellen stieg signifikant. Coliforme Keime wurden im Wachstum gehemmt, viele Begleitkeime mit Ausnahme von *Pseudomonas aeruginosa* und Pilzen völlig unterdrückt. Zur Unterdrückung von Pilzen wird der Zusatz von Amphotericin B (50 mg/l) empfohlen. Beim Einsatz von Cephalexin anstelle von Penicillin ist die Anzucht vorgeschädigter *B. pertussis* erfolgreicher, die Isolierungsrate erhöht sich.

Cephalexin wird gleichfalls für einen *B. pertussis*-Transportnährboden empfohlen⁴. Halbkonzentrierte Kohle-Blutagar-Basis mit Pferdeblut- (10 %) und Cephalexin-Zusatz (40 µg/ml) unterdrückt das Wachstum der Begleitflora und ist gleichzeitig ein Anreicherungs-nährboden, da die Zahl der lebensfähigen *B. pertussis* und *B. parapertussis* erhöht wird. Beim Einsatz der Kombination Anreicherungs-/Transportnährboden mit nachfolgender Isolierung auf Cephalexin-Kohle-Blutagar werden erhöhte Isolierungsraten an *B. pertussis* erzielt.

Kulturverfahren

1. Bordetella-Selektivnährboden nach Vorschrift zubereiten.
2. Entweder mit post- oder pernasalen Abstrichen beim-pfen und bis zu 3 Tagen bei 36°C in einer feuchten Kammer bebrüten⁹.

Die früher häufig benutzte "Hustenplatte" sollte wegen der geringen Sensitivität nicht mehr verwendet werden^{10,11}.

Koloniemorphologie

Bordetella pertussis

Wächst in der glatten (S)-Form und bildet kleine, blasse, tropfenförmige, glänzende Kolonien.

Bordetella parapertussis

Entwickeln sich etwas rascher zu makroskopisch feststellbarer Größe.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Supplement: 2-8°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Zusätzliche Hinweise

Bordetella pertussis kann mikroskopisch nicht von *Haemophilus* spp. unterschieden werden.

Um ein Überwachsen durch filamentöse Pilze zu verhindern, kann Amphotericin B (12 µg/ml) zugesetzt werden. Diese Konzentration an Amphotericin B kann jedoch *B. pertussis* hemmen. Die gewachsenen Pilze sollten besser mit einem sterilen Skalpell ausgeschnitten werden¹².

Literatur

1. Bradford, W.L., und Slavin, B. (1940) Proc. Soc. Exp. Biol. 43, 590.
2. Lacey, B.W. (1954) J. Hyg. 52, 273-303.
3. Sutcliffe, E.M. und Abbott, J.D. (1972) Brit. Med. J. II 732-733.
4. Regan, J. und Lowe, F. (1977) J. Clin. Microbiol. 6, 303-309.
5. Stauffer, L.R., Brown, D.R. und Sandstrom, R.E. (1983) J. Clin. Microbiol. 17, 60-62.
6. Gilligan, P.H. und Fisher, M.C. (1984) J. Clin. Microbiol. 20, 891-893.
7. Young, S.A., Anderson, G.L. und Mitchell, P.D. (1987) Clin. Microbiol. Newsletter 9, 176-179.
8. Fleming, A. (1932) J. Pathol. Bacteriol. 35, 831.
9. Bradford, W.L. und Brooks, A.M. (1941) Am. J. Dis. Child. 62, 436-438.
10. Burkhardt, F. (Hrsg.) "Mikrobiologische Diagnostik" (1992) Thieme, Stuttgart, New York.
11. DGHM (Lieferung 1, 1981) "Verfahrensrichtlinien für die Mikrobiologische Diagnostik". Kap. 1.5, S. 10.
12. Gilligan, P.H. und Fisher, M.C. (1984) J. Clin. Microbiol. 20, 891-893.