

BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood (Schaedler-KV Agar)

VERWENDUNGSZWECK

BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood ist ein äußerst nährstoffreiches, selektives Medium zur Isolierung von anspruchsvollen, gramnegativen anaeroben Stäbchen, insbesondere der *Bacteroides* und *Prevotella* Spezies und einer Auswahl von anderen gramnegativen Anaerobiern.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Das Basismedium von Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar mit 5 % Schafblut ist Schaedler-Agar, ein äußerst nährstoffreiches Medium, welches speziell für das Wachstum von obligaten Anaerobiern entwickelt wurde.^{1,2} Mit der Zugabe von Vitamin K1 und Hämin stellt es die Basis für mehrere selektive Medien dar, inklusive Schaedler-KV-Agar mit 5 % Schafblut.

Die Kombination von Kanamycin und Vancomycin zur Anwendung für die selektive Isolierung von gramnegativen Anaerobiern wurde zuerst von Finegold *et al.* beschrieben.³

Im **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** liefern drei Peptone die Nährstoffe. Glucose ist eine Energiequelle. Ein Tris-Puffer ist enthalten, um eine extreme Verminderung des pH-Wertes während der Glucosefermentierung zu vermeiden. Der Hefeextrakt ist eine reichhaltige Vitaminquelle. Das Hämin und das Schafblut liefern das von einer Vielzahl von obligaten Anaerobiern benötigte Häm und zusätzliche wachstumsfördernde Substanzen. Von Vitamin K wird berichtet, dass es das Wachstum einer Vielzahl von gramnegativen Anaerobiern verstärkt.^{4,5} Das Natriumchlorid sorgt für die unentbehrlichen Elektrolyte.

Kanamycin hemmt gramnegative, fakultativ anaerobe Stäbchen und einige andere fakultative Bakterien, während Vancomycin grampositive Bakterien hemmt. Die Zugabe dieser antimikrobiellen Substanzen macht das Medium selektiv für gramnegative, obligate Anaerobier, wie z.B. *Bacteroides* und *Prevotella*.^{3, 5-7}

REAGENZIEN

BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood

Zusammensetzung* pro Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	8,2 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	2,5
Papainisch abgebautes Sojamehl	1,0
Glucose	5,8
Hefeextrakt	5,0
Natriumchlorid	1,7
Dikaliumphosphat	0,8
L-Cystin	0,4
Hämin	0,01
Vitamin K1	0,01
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan	3,0
Agar	13,5
Kanamycin	0,1
Vancomycin	0,0075
Schafblut, defibriniert	5 %

pH 7,6 ± 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.

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 48 – 72 Stunden anaerob inkubieren (z.B. **BD GasPak Anaerobic System**).

Stämme	Wachstum
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum; vollständig gehemmtes Schwärmen
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Rot (blutfarben)

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood (90 mm **Stacker-Platten**). Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte, inklusive anaerobe Inkubationssysteme nach Bedarf.

Probenarten

Dieses Produkt ist ein selektives Medium für gramnegative, obligate anaerobe Stäbchen und kann für alle geeigneten Proben verwendet werden (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Dabei sind die anerkannten Methoden für die Entnahme und den Transport von anaeroben Proben einzuhalten.⁷⁻¹² Geeignete Transportmedien, z.B. **BD Port-A-Cul**, müssen verwendet werden.

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 Oberfläche rollen und anschließend aus dieser inokulierten Fläche zur Verdünnung ausstreichen. Ein nicht selektives Medium, z.B. **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** oder **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** muss ebenfalls inokuliert

und anaerob inkubiert werden, um andere in der Probe vorhandenen anaeroben Organismen nachzuweisen.

Sofort 2 – 3 Tage bei 35 – 37 °C unter anaeroben Bedingungen inkubieren. Eine effiziente und einfache Art, geeignete anaerobe Bedingungen zu erreichen ist die Verwendung des **BD GasPak** anaeroben Systems. Ungeachtet des verwendeten anaeroben Systems ist es wichtig, einen Indikator der Anaerobiose einzuschließen, wie z.B. den anaeroben **BD GasPak** Einmalindikator. Als Referenzmedium für die aerob wachsenden Bakterien sollte die Probe auf **BD Columbia Agar mit 5 % Schafblut** ausgestrichen werden, welches mit 5 – 10 % Kohlendioxid aerob inkubiert wird. Siehe Literaturhinweise für weitere Details zur Probenbehandlung.^{6,7,9-12}

Ergebnisse

Nach der Inkubation werden die meisten Platten einen Bereich konfluierenden Wachstums zeigen. Da das Ausstreichen in Wirklichkeit eine „Verdünnungstechnik“ darstellt, wird eine sich verringernde Anzahl von Mikroorganismen auf den ausgestrichenen Bereichen abgelagert. Folglich sollten einer oder mehrere dieser Bereiche isolierte Kolonien der in der Probe enthaltenen Organismen aufweisen. Außerdem kann das Wachstum jedes Organismus auf der Basis des Wachstums in jedem der ausgestrichenen Bereiche semi-quantitativ bestimmt werden.

Zur Identifizierung der isolierten Organismen sind weitere Differenzierungs- und Identifizierungsschritte notwendig. Weitere Differenzierungs- und Identifizierungsverfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{5-7,9-12}

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Auf diesem Medium werden alle Spezies der *Bacteroides fragilis* Gruppe, *Prevotella* Spezies, wie z.B. *P. bivia*, *P. disiens*, *P. denticola*, *P. buccae*, die *Prevotella melaninogenica* Gruppe und einige andere gramnegative, obligate Anaerobier wachsen.^{5-7,9-11,13} Siehe Literaturhinweise für die aktuelle Taxonomie.⁷

Die Vancomycinkonzentration (7,5 mg/mL) kann auf *Porphyromonas* Spezies und auf Fusobakterien hemmend wirken.⁷

Fakultative Anaerobier, welche eine Resistenz auf Aminoglycoside zeigen, können auf dem Medium wachsen.

Obwohl bestimmte diagnostische Tests direkt auf diesem Medium durchgeführt werden können, sind für eine vollständige Identifizierung biochemische und, falls indiziert, immunologische Tests unter Verwendung von Reinkulturen erforderlich.

LITERATUR

1. Schaedler, R.W., R. Dubos, and R. Costello. 1965. The development of the bacterial flora in the gastrointestinal tract of mice. *J. Exp. Med.* 122:59-66.
2. Mata, L.J., C. Carrillo, and E. Villatoro. 1969. Fecal microflora in healthy persons in a preindustrial region. *Appl. Microbiol.* 17:596-602.
3. Finegold, S.M., A.B. Miller, and D.J. Posnick. 1965. Further studies on selective media for *Bacteroides* and other anaerobes. *Ernährungsforschung* 10:517-528.
4. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. *J. Bacteriol.* 80:164-170.
5. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria. In: E.H. Lennette, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Allen, S.D., J.A. Siders, and L.M. Marler. 1985. Isolation and examination of anaerobic bacteria. In: E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., and H.J. Shadomy (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Jousimies-Somer, H.R., et al. 2003. *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, and other anaerobic gram-negative bacteria. 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.

8. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1995. Specimen Collection, transport, and storage. *In*: Murray, P. R., 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.
9. Holdeman, L.V., E.P. Cato, and W.E.C. Moore (ed.). 1977. Anaerobe laboratory manual, 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.
10. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
11. Summanen, P., E.J. Baron, D.M. Citron, C.A. Strong, H.M. Wexler, and S.M. Finegold. 1993. Wadsworth anaerobic bacteriology manual, 5th ed. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
12. Murray, P.R., and D.M. Citron. 1991. General processing of specimens for anaerobic bacteria. *In*: A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. van Winkelhoff, A.J., and J. de Graaff. 1983. Vancomycin as a selective agent for isolation of *Bacteroides*. J. Clin. Microbiol. 18:1282-1284.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood

Best.-Nr. 254023 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten
Best.-Nr. 254077 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