

BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood

VERWENDUNGSZWECK

BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood (Schaedler-Agar mit Vitamin K1 und 5 % Schafblut) ist ein nährstoffreiches, nicht selektives Medium zur Isolierung und Kultivierung von anspruchsvollen, obligaten Anaerobiern aus klinischen Proben.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Schaedler-Agar mit Schafblut ist ein nährstoffreiches Medium, welches speziell für das Wachstum von obligaten Anaerobiern, wie z.B. Lactobazillen, Streptokokken, Clostridien und *Bacteroides*, entwickelt wurde.¹⁻³ Mit der Zugabe von Vitamin K1 und Hämin stellt es die Basis für mehrere selektive Medien dar, inklusive Schaedler-KV-Agar mit 5 % Schafblut.

In **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 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. Der Zusatz von Vitamin K ist eine zusätzliche Modifikation, welche durchgeführt wurde, da Vitamin K1 eine Voraussetzung für das Wachstum einiger *Prevotella melaninogenica* (*Bacteroides melaninogenicus*)-Stämme darstellt und Berichten zufolge das Wachstum einiger Stämme von *Bacteroides* und grampositiven Nicht-Sporenbildnern verbessert.^{4,5} Natriumchlorid liefert die unentbehrlichen Elektrolyte.

Heute wird das Medium weithin als nicht selektives, nährstoffreiches Medium für die Isolierung von obligaten Anaerobiern verwendet.^{6,7}

REAGENZIEN

BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 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 K	0,01
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan	3,0
Agar	13,5
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 bei 35 – 37 °C anaerob inkubieren (z.B. BD **GasPak** Anaerobic System).

Stämme	Wachstum
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Gutes bis sehr gutes Wachstum; grauweiße Kolonien
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Gutes bis sehr gutes Wachstum; große, lappenförmige, grauweiße Kolonien; Beta-(Doppelzonen)-Hämolyse
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Gutes bis sehr gutes Wachstum; grauweiße Kolonien, umgeben von dunkelgrauen Zonen
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Gutes bis sehr gutes Wachstum; weißliche Kolonien
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Mittleres bis gutes Wachstum; kleine, schmutzig-weiße bis graubraune Kolonien
Nicht inokuliert	Rot (blutfarben)

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood (90 mm **Stacker-Platten**).

Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Dies ist ein selektives Medium für die Isolierung und Kultivierung von obligaten Anaerobiern, das für alle klinischen Probenarten verwendet werden kann (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Dabei sind die anerkannten Methoden für die Auswahl, Entnahme und den Transport von anaeroben Proben einzuhalten.⁵⁻¹⁰ Geeignete Transportmedien, z.B. **BD Port-A-Cul**, müssen verwendet werden.

Testverfahren

Probe möglichst bald nach Eingang im Labor austreichen. 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 zur Isolierung aus dieser inokulierten Fläche austreichen.

Für die Isolierung von obligaten Anaerobiern wird für alle Proben die Verwendung von mindestens zwei Medien empfohlen. Eine Platte, **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**, wird nach der Inokulation anaerob inkubiert. Die zweite Platte, z.B. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (Columbia-Agar mit 5 % Schafblut), muss für die Isolierung von eventuell vorhandenen aeroben Pathogenen aerob mit 5 – 10 % Kohlendioxid inkubiert werden. Zusätzlich sollte ein selektives anaerobes Medium für gramnegative, obligate Anaerobier, wie z.B. **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** (Schaedler-Kanamycin-Vancomycin-Agar mit 5 % Schafblut), inokuliert werden. 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 **GasPak** Einmalindikator. Siehe Literaturhinweise für weitere Details zur Probenbehandlung.⁵⁻⁹ Platten in geeigneter Atmosphäre bei 35 – 37 °C mindestens 48 h und bis zu 7 Tage inkubieren, bevor sie als negativ betrachtet werden.

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.

Auf **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** wachsen alle obligaten und fakultativen Anaerobier. Das Wachstum auf diesem Medium wird mit jenem auf aerob inkubierten **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**-Platten verglichen, welche nur die fakultativen Anaerobier enthalten. Schließlich wird das Wachstum auf **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** mit dem Wachstum auf den anderen zwei Medien verglichen. Falls gemischte Kulturen aus obligaten und fakultativen Anaerobiern vorhanden sind, sollten geeignete Subkulturen auf nicht selektiven Medien, aerob und anaerob inkubiert, aus den anaeroben Medien hergestellt werden, um zu bestätigen, dass das Isolat ein obligater Anaerobier ist.

Für weitere Differenzierungs- und Identifizierungsverfahren sind die geeigneten Literaturhinweise zu beachten.^{5,7-9,11}

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Auf **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**, eines der Standardmedien für die Isolierung von obligaten Anaerobiern, wachsen *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, obligat anaerobe, nicht Sporen-bildende Stäbchen (z.B. die frühere Gattung *Eubacterium*), *Mobiluncus*, *Actinomyces* und viele andere.^{5,8,9,11}

Es ist zu beachten, dass die Wachstumsraten von obligaten Anaerobiern stark variieren. Während *Bacteroides fragilis* schon nach 24 Stunden gut wachsen, brauchen *Mobiluncus*- oder *Porphyromonas*-Stämme 4 – 5 Tage und *Actinomyces* sogar 1 – 3 Wochen oder länger, um gut sichtbare Kolonien zu produzieren. Wenn Kulturen nach 2 oder 3 Tagen Inkubation negativ sind, noch einmal 2 – 3 Tage anaerob inkubieren. Bei Verdacht auf *Actinomyces* sollten bestimmte Kulturplatten dieses Mediums und anderer Medien (z.B. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) inokuliert werden und nach 1, 2 und eventuell 3 Wochen Inkubationszeit überprüft werden.

BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood ist für obligate Anaerobier nicht selektiv. Bei anaerober Inkubation wachsen auch fakultative Organismen auf diesem Medium. Deshalb ist es wichtig, die Ergebnisse der anaeroben Kultur mit jenen einer aerob inkubierten Platte zu vergleichen, falls gemischte Kulturen erhalten werden.

Schaedler-Agar enthält eine hohe Glucose-Konzentration, welche das schnelle Wachstum von saccharolytischen Organismen unterstützt, aber der Lebensfähigkeit jener Organismen schadet, welche den während des Bakterienstoffwechsels akkumulierten Säuren ausgesetzt sind.⁷

Es gibt eine hohe Anzahl und zahlreiche Arten bakterieller Spezies, die Infektionskrankheiten hervorrufen. Bevor das 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. 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. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
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. Allen, S.D., J.A. Siders, and L.M. Marler. 1985. Isolation and examination of anaerobic bacteria, p. 413-433. 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.
6. 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.
7. 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.
8. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. *Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology*. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
9. 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, CA, USA.
10. 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.
11. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood

Best.-Nr. 254042 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

Best.-Nr. 254084 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