

BD CDC Anaerobe Agar + 5% Sheep Blood

VERWENDUNGSZWECK

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood (CDC-Anaerobier-Agar mit 5 % Schafblut) ist ein nicht selektives Medium zur Isolierung und Kultivierung von anspruchsvollen, obligaten Anaerobiern aus klinischen Proben und nicht klinischen Materialien.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

CDC-Anaerobier-Agar mit 5 % Schafblut wurde von Dowell et al. von den Centers for Disease Control and Prevention konzipiert als angereichertes, nicht selektives Medium zur Isolierung und Kultivierung einer großen Anzahl von obligat anaeroben Mikroorganismen, insbesondere jener in klinischen Materialien.¹⁻⁴ Das Medium enthält **Trypticase** Soja-Agar angereichert mit zusätzlichem Agar als Nährstoffquelle. Natriumchlorid wahrt das osmotische Gleichgewicht. Schafblut, Hämin, Cystin und Vitamin K1 liefern die von bestimmten obligaten Anaerobiern benötigten Wachstumsfaktoren.^{1,5-7} Auf diesem Medium hat sich verbessertes Wachstum von *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium haemolyticum*, sowie bestimmter Stämme von *Actinomyces israelii* und *Bacteroides thetaiotaomicron* gezeigt.² Außerdem wurde über im Vergleich zu Schaedler Blutagar weniger glatte bis raue Kolonievariationen von *Bacteroides fragilis* auf diesem Medium berichtet.⁵

REAGENZIEN

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood

Zusammensetzung* pro 1 L destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	15,0 g
Papainisch abgebautes Sojamehl	5,0
Natriumchlorid	5,0
Agar	20,0
Hefeextrakt	5,0
Hämin	0,005
Vitamin K1	0,01
L-Cystin	0,4
Schafblut, defibriniert	5 %

pH 7,5 ± 0,2

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch.

Platten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zu Verfahren unter Einhaltung aseptischer Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des gebrauchten Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

LAGERUNG 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 Packungen 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 h anaerob inkubieren (z.B. BD **GasPak** Anaerobic System).

Stämme	Wachstum
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Mittleres bis gutes Wachstum
Nicht inokuliert	Rot bis dunkelrot (blutfarben)

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD CDC Anaerobe Agar with 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**). Anerkannte Verfahren zur Probenentnahme und zum Transport von anaeroben Proben sind zu befolgen.⁸⁻¹¹ 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 der Oberfläche rollen; anschließend zur Isolierung aus dieser inokulierten Fläche ausstreichen.

Für die Isolierung von obligaten Anaerobiern wird für alle Proben die Verwendung von mindestens zwei Medien empfohlen. Eine Platte **BD CDC Anaerobe Agar with 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.^{8-10,12,13}

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 aufweisen. 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 CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** wachsen alle obligaten und fakultativen Anaerobier. Das Wachstum auf diesem anaeroben Medium wird mit jenem auf der aerob inkubierten **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**-Platte verglichen, welche nur die fakultativen Anaerobier enthält. 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.^{8-10,14}

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Auf **BD CDC Anaerobe Agar with 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.^{4,9,10,14-16}

Es ist zu beachten, dass die Wachstumsraten von obligaten Anaerobiern stark variieren. Während *Bacteroides fragilis* schon nach 24 h 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 spezielle Kulturen inokuliert und nach einer, zwei und schließlich 3 Wochen Inkubationszeit überprüft werden.

Dieses Medium ist nicht ausschließlich selektiv für obligate Anaerobier. 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.

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood enthält weder Glucose noch andere Zucker. Aus diesem Grund zeigen stark saccharolytische Organismen, wie z.B. Lactobazillen und bestimmte saccharolytische Klostridien, auf diesem Medium ein ziemlich langsames Wachstum. **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** ist das bevorzugte Medium zur nicht selektiven Isolierung dieser Organismen.

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. Dowell, V.R., Jr., G.L. Lombard, F.S. Thompson, and A.Y. Armfield. 1977. Media for isolation, characterization, and identification of obligately anaerobic bacteria. CDC laboratory manual. Center for Disease Control, Atlanta.
2. Dowell, V.R., Jr., and T.M. Hawkins. 1987. Laboratory methods in anaerobic bacteriology. CDC laboratory manual. HHS Publication No. (CDC) 87-8272. Centers for Disease Control, Atlanta.
3. Rodloff, A.C., P.C. Appelbaum, and R.J. Zabransky. 1991. Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology. Coordinating ed., A.C. Rodloff. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Isenberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Starr, S.E., G.E. Killgore, and V.R. Dowell, Jr. 1971. Comparison of Schaedler agar and Trypticase soy- yeast extract agar for the cultivation of anaerobic bacteria. Appl. Microbiol. 22:655-658.

6. 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.
7. Wilkins, T.D., S.L. Chalgren, F. Jimenez-Ulate, C.R. Drake, Jr., and J.L. Johnson. 1976. Inhibition of *Bacteroides fragilis* on blood agar plates and reversal of inhibition by added hemin. *J. Clin. Microbiol.* 3:359-363.
8. 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.
9. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. *Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology*. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
10. 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.
11. 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.
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. Forbes, B.A. and P.A. Granato. 1995. Processing specimens for bacteria. *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.
14. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1995. *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
15. Thomson Jr., R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen Collection, transport, and processing: bacteriology. *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.
16. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. *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.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood

Best.-Nr. 256506 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



BD Diagnostic Systems

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

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo, Trypticase, Stacker, Port-A-Cul and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company