BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)

VERWENDUNGSZWECK

BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (Biplate) wird zur nicht selektiven Isolierung von Anaerobiern und zur selektiven Isolierung von gramnegativen anaeroben Stäbchen, insbesondere der *Bacteroides*- und *Prevotella*-Spezies und einer Auswahl von anderen gramnegativen Anaerobiern aus klinischen Proben verwendet.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Schaedler-Agar mit 5 % 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 Schaedler-Agar mit 5 % Schafblut 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 weiterhin als nicht selektives, nährstoffreiches Medium für die Isolierung von obligaten Anaerobiern verwendet.

Schaedler-KV-Agar mit 5 % Schafblut enthält dasselbe Basismedium wie Schaedler-Agar, jedoch mit 5% lysiertem Schafsblut. Zusätzlich wurden dem Medium Kanamycin und Vancomycin beigefügt. Kanamycin hemmt gramnegative fakultativ anaerobe Stäbchen und einige andere fakultative Bakterien, während Vancomycin grampositive Bakterien hemmt. Der Zusatz dieser antimikrobiellen Substanzen macht das Medium selektiv für gramnegative obligate Anaerobier, wie z.B. *Bacteroides* und *Prevotella*.[3, 5-8] Durch das hinzugefügte lysierte Blut wird das Wachstum verbessert und die beiden Medien des Biplates können leichter unterschieden werden. Beachten Sie, dass auf diesem Medium keine hämolytischen Reaktionen abgelesen werden können.

BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (Biplate) wird zur Erstisolierung von obligaten Anaerobiern und gramnegativen obligat anaeroben Stäbchen aus klinischen Proben verwendet.[5-8]

REAGENZIEN

BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Schaedler Agar with 5% Sheep Blood			
Pankreatisch abgebautes Casein	8,2 g	L-Cystin	0,4 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	2,5	Hämin	0,01
Papainisch abgebautes Sojamehl	1,0	Vitamin K 1	0,01
Glucose	5,8	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan	3,0
Hefeextrakt	5,0	Agar	13,5
Natriumchlorid	1,7	Schafblut, defibriniert	5 %
Dikaliumphosphat	0,8	pH 7,6 ± 0,2	

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

Schaedler KV Agar enthält 5 % lysiertes Schafblut und zusätzlich zu den obigen Bestandteilen 0,1 g/L Kanamycin und 0,0075 g/L Vancomycin.

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.

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

Stämme	**Schaedler Agar with 5% Sheep Blood**	**Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood**
Bacteroides fragilis ATCC 25285	Gutes bis sehr gutes Wachstum; grauweiße Kolonien; Beta-Hämolyse	Gutes bis sehr gutes Wachstum; grauweiße Kolonien
Bacteroides thetaiotaomicron ATCC 29741	Gutes bis sehr gutes Wachstum; grauweiße Kolonien; Beta-Hämolyse	Gutes bis sehr gutes Wachstum; grauweiße Kolonien
Clostridium perfringens ATCC 13124	Gutes bis sehr gutes Wachstum; große, lappenförmige, grauweiße Kolonien; Beta-(Doppelzonen)-Hämolyse	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
Fusobacterium nucleatum ATCC 25586	Gutes bis sehr gutes Wachstum; grauweiße Kolonien, umgeben von dunkelgrauen Zonen	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
Peptostreptococcus anaerobius ATCC 27337	Gutes bis sehr gutes Wachstum; weißliche Kolonien	Vollständig gehemmtes Wachstum
Porphyromonas levii ATCC 29147	Mittleres bis gutes Wachstum; schmutzig-weißliche bis graubraune Kolonien	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
Escherichia coli ATCC 25922	Wachstum	Vollständig gehemmtes Wachstum
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Wachstum	Vollständig gehemmtes Wachstum
Proteus mirabilis ATCC 12453	Wachstum; Schwärmen	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum; gehemmtes Schwärmen
Nicht inokuliert	Rot bis dunkelrot, opak	Rot, transparent

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (90 mm **Stacker-Doppelplatten**) Mikrobiologisch kontrolliert. Zur Unterscheidung der beiden Medien dieses Biplates enthält Schaedler KV Agar lysiertes Schafblut, wodurch das Medium transparent wird, während Schaedler Agar opak ist.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Diese Doppelplatte enthält zwei Medien zur Erstisolierung von obligaten Anaerobiern und kann für alle Arten von klinischen Proben verwendet werden (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Anerkannte Verfahren zur Probenentnahme und zum Transport von anaeroben Proben sind zu befolgen.[5-12] 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.
Um diese Doppelplatte mit Proben von Tupfern zu inokulieren, zuerst den Tupfer über einen kleinen Bereich Schaedler-Agar mit 5 % Schafblut abrollen und danach über einen kleinen Bereich Schaedler-KV-Agar mit 5 % Schafblut. Mit einer Öse ausgehend vom inokulierten Bereich ausstreichen, zuerst auf Schaedler-Agar mit 5 % Schafblut, dann auf Schaedler-KV-Agar mit 5 % Schafblut. 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.
Platten in geeigneter Atmosphäre bei 35 – 37 °C mindestens 48 h und bis zu 7 Tage inkubieren, bevor sie als negativ betrachtet werden.
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.

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 Schaedler-Agar mit 5 % Schafblut 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 Schaedler-KV-Agar mit 5 % Schafblut 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.[7-13]

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (Biplate) enthält zwei Standard-Isolierungsmedien, eines für obligat anaerobe Bakterien, und das andere für obligat anaerobe gramnegative Stäbchen.[5-8,10-13]

Auf Schaedler-Agar mit 5 % Schafblut, eines der Standardmedien für die Isolierung von obligaten Anaerobiern, wachsen *Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium, Clostridium, Peptostreptococcus,* obligat anaerobe, nicht Sporen-bildende Stäbchen (z.B. der frühere Genus *Eubacterium*), *Mobiluncus, Actinomyces* und viele andere.
Es ist zu beachten, dass die Wachstumsraten von obligaten Anaerobiern stark variieren. Während *Bacteroides fragilis* schon nach 24 Stunden gut wachsen, brauchen *Mobilincus*- oder *Porphyromonas*-Stämme 4 – 5 Tage und *Actinomyces* sogar 1 – 3 Wochen, 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 1, 2 und schließlich 3 Wochen Inkubationszeit überprüft werden.
Dieses Medium ist nicht speziell selektiv für obligate Anaerobier; fakultative Organismen weisen ebenfalls Wachstum auf. Deshalb ist es wichtig, die Ergebnisse der anaeroben Kultur mit jenen einer aerob inkubierten Platte zu vergleichen, falls gemischte Kulturen erhalten werden.
Schaedler-Agar mit 5 % Schafblut 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.[8]
Auf Schaedler-KV-Agar mit 5 % Schafblut 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. Siehe Literaturhinweise für die aktuelle Taxonomie.[12]
Bakterielle Beta-Hämolyse kann nicht auf **Schaedler KV Agar** ausgewertet werden, da dieses Medium lysiertes Blut enthält. Die Beta-Hämolyse wird jedoch nicht zur Diagnose der auf diesem Medium wachsenden Organismen eingesetzt.

Fusobacterium spp. kann je nach Empfindlichkeit der einzelnen Stämme gegenüber den antimikrobiellen Substanzen Wachstum zeigen oder nicht.[7]
Die Vancomycinkonzentration (7,5 mg/mL) kann gewöhnlich auf *Porphyromonas*-Spezies und auf Fusobakterien hemmend wirken.[7,13]
Fakultative Anaerobier, welche eine Resistenz auf Aminoglycoside zeigen, können auf dem Medium wachsen.

Obwohl bestimmte diagnostische Tests direkt auf **BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)** 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. 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. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 368. 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, 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 Micro biology, Washington, D.C.
7. 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.
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, CA, USA.
11. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. 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. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8thed. 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 Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)

Best.-Nr. 254476	Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten
Best.-Nr. 257589	Gebrauchsfertige Plattenmedien, 120 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.

Becton Dickinson GmbH
Tullastrasse 8 – 12
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
All other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company.
© 2016 BD