

BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood

VERWENDUNGSZWECK

BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood (BD Schaedler CNA-Agar mit 5 % Schafblut) ist ein teilweise selektives Medium zur Isolierung von obligat anaeroben grampositiven Kokken und anderen anaeroben grampositiven Bakterien 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. Ellner et al. entdeckten, dass ein Medium mit 10 mg Colistin und 15 mg Nalidixinsäure je Liter in Columbia-Agar, angereichert mit 5 % Schafblut, das Wachstum von vielen grampositiven Organismen unterstützt und gleichzeitig das Wachstum von *Proteus*-, *Klebsiella*- und *Pseudomonas*-Spezies hemmt.⁴ Heute werden Colistin und Nalidixinsäure (CNA) in einer Vielzahl von Medien zur Hemmung von gramnegativen Bakterien eingesetzt. Anaerob inkubiert wird **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** zur selektiven Isolierung von grampositiven Kokken, insbesondere *Peptostreptococcus* und *Peptococcus*, verwendet.^{3,5} Außerdem wachsen auf diesem Medium andere grampositive Anaerobier, z.B. Clostridien, *Eggerthella lenta* (= *Eubacterium lentum*), *Mobiluncus*, und (obwohl sie gramnegativ sind) einige Spezies der *Bacteroides fragilis*-Gruppe, wie z.B. *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* und *B. vulgatus*. Dieses Medium ist besonders geeignet für Proben mit gemischter Flora.

In **BD Schaedler CNA 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. Colistin und Nalidixinsäure sind Inhibitoren von fakultativ anaeroben gramnegativen Bakterien, insbesondere *Enterobacteriaceae*.

REAGENZIEN

BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

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

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.

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 bei 35 – 37 °C anaerob inkubieren (z.B. BD **GasPak** Anaerobic System).

Stämme	Wachstum
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Mittleres bis gutes Wachstum; Beta-(Doppelzonen)-Hämolyse
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Rot bis dunkelrot (blutfarben)

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Schaedler CNA 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 grampositiven obligaten Anaerobiern, das für alle klinischen Probenarten verwendet werden kann (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Es ist besonders hilfreich für die Verarbeitung von Proben mit einer gemischten Flora aus fakultativen gramnegativen Bakterien.

Dabei sind die anerkannten Methoden für die Entnahme und den Transport von anaeroben Proben einzuhalten.⁶⁻⁸ Geeignete Transportmedien, z.B. **BD Port-A-Cul**, müssen verwendet werden.

Testverfahren

Die Proben möglichst bald nach Eingang im Labor auf **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** 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 aus diesem inokulierten Bereich ausstreichen.

Um alle möglicherweise beteiligten Erreger zu isolieren, sollte ein nicht selektives anaerobes Medium, wie z.B. **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** mit einbezogen werden. Zusätzlich wird die Verwendung eines selektiven Mediums für gramnegative Anaerobier, wie z.B. **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** empfohlen. Platten in geeigneter Atmosphäre bei 35 – 37 °C mindestens 48 h bzw. bis zu 7 Tage inkubieren, bevor sie als negativ betrachtet 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.

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.

Das Vorhandensein von Wachstum auf **BD Schaedler CNA Agar with 5 % Sheep Blood** und das gleichzeitige Fehlen von entsprechenden Kolonien auf dem aerob inkubierten **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** ist ein Anzeichen für die Präsenz von anaeroben Bakterien. Wenn Wachstum auf **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** auftritt und nicht auf **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin-Agar with 5% Sheep Blood**, handelt es sich bei den Isolaten wahrscheinlich um obligat anaerobe grampositive Bakterien. Werden auf **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin-Agar with 5% Sheep Blood**-Platte die gleiche Art Kolonien entdeckt, gehören die Isolate möglicherweise zur *B. fragilis*-Gruppe. In beiden Fällen bringt eine Gramfärbung Aufschluss über die Art der isolierten Bakterien. Wachstum auf **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** ohne Wachstum auf den beiden selektiven anaeroben Medien ist ein Anzeichen für das Vorhandensein von obligaten Anaerobiern, welche gegenüber den Inhibitoren in diesen Medien empfindlich sind, wie z.B. gramnegative anaerobe Kokken und andere. 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.

Zur Identifizierung der isolierten Organismen sind weitere Differenzierungsschritte, einschließlich Gramfärbungen, notwendig. Weitere Informationen und die Identifizierungsverfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.⁶⁻¹¹

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Bei anaerober Inkubation ist **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** ein Medium zur selektiven Isolierung von vielen anaeroben grampositiven Mikroorganismen.^{3,5} Auf diesem Medium wachsen *Peptostreptococcus*, *Peptococcus* und andere grampositive Anaerobier, z.B. Clostridien, *Eggerthella lenta* (= *Eubacterium lentum*), *Mobiluncus*, sowie andere anaerobe grampositive nicht sporenbildende Stäbchen. Dieses Medium hemmt fakultative gramnegative Anaerobier, z.B. *Enterobacteriaceae*.

Bei anaerober Inkubation ist **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** nicht vollständig selektiv für obligat anaerobe grampositive Organismen. Fakultativ grampositive Organismen, wie *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Listeria* oder andere, können auf diesem Medium Wachstum zeigen.

Da die meisten Spezies der *Bacteroides fragilis*-Gruppe und bestimmte Spezies des Genus *Prevotella*, z.B. *Prevotella bivia*, gegenüber den selektiven Bestandteilen resistent sind, wachsen sie regelmäßig auf diesem Medium.

Gelegentlich wird das Wachstum von grampositiven Anaerobiern, welche gegenüber den selektiven Agenzien empfindlich sind, z.B. bestimmte *Clostridium spp.*, auf diesem Medium teilweise bis vollständig gehemmt. Deshalb müssen die Proben auch auf einem nicht selektiven Medium ausgestrichen 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 the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London

4. Ellner, P.D., C.J. Stoessel, E. Drakeford, and F. Vasi. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:502-504.
5. Atlas, R.M. 1993. *Handbook of microbiological media*. CRC Press, Boca Raton, USA.
6. 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.
7. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. *Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology*. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
8. 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.
9. 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.
10. Murray, P.R., and D.M. Citron. 1991. General processing of specimens for anaerobic bacteria, p. 488-504. 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.
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 Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

Best.-Nr. 254485

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 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, Stacker, Port-A-Cul and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

© 2011 BD