

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

APPLICATION

La **BD Schaedler Agar / Schaedler KV Agar, with 5% Sheep Blood** (Biplate) (gélose Schaedler / KV Schaedler avec 5 % de sang de mouton, en boîte de Pétri à deux compartiments) est utilisée pour l'isolement non sélectif des anaérobies et pour l'isolement sélectif des bâtonnets anaérobies Gram négatifs, en particulier les *Bacteroides* et *Prevotella* spp., et divers autres anaérobies Gram négatifs.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

La **Schaedler Agar with 5% Sheep Blood** est un milieu extrêmement nutritif, développé spécialement pour la croissance d'anaérobies stricts tels que les lactobacilles, les streptocoques, les clostridia et les *Bacteroides*.¹⁻³ Grâce à l'ajout de vitamine K1 et d'hémine, cette préparation constitue la base de plusieurs milieux sélectifs et notamment la Schaedler KV Agar with 5 % Sheep Blood.

Dans la Schaedler Agar with 5% Sheep Blood, trois peptones apportent des éléments nutritifs. Le glucose constitue la source d'énergie. Un tampon Tris est ajouté pour éviter que le pH ne diminue de manière excessive pendant la fermentation du glucose. L'extrait de levure est une importante source de vitamines. L'hémine et le sang de mouton fournissent l'hème requis par de nombreux anaérobies stricts ainsi que d'autres substances favorisant la croissance. Autre modification : l'ajout de vitamine K, nécessaire au développement de certaines souches de *Prevotella melaninogenica* (*Bacteroides melaninogenicus*). Cette substance est réputée améliorer la croissance de certaines souches de *Bacteroides* et de bactéries non sporulées Gram positives.^{4,5} Le chlorure de sodium fournit les électrolytes essentiels.

Aujourd'hui, cette gélose est fréquemment utilisée en tant que milieu non sélectif à haute valeur nutritive, pour l'isolement des anaérobies stricts.^{6,7}

La **Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood** contient le même milieu de base que la Schaedler Agar with 5% Sheep Blood. De plus, la kanamycine et la vancomycine sont ajoutées au milieu. La kanamycine inhibe les bâtonnets Gram négatifs anaérobies facultatifs, ainsi que plusieurs autres bactéries facultatives, tandis que la vancomycine inhibe les bactéries Gram positives. L'ajout de ces agents antimicrobiens rend le milieu sélectif pour les anaérobies stricts Gram négatifs, tels que les *Bacteroides* et les *Prevotella*.^{3,5-8}

La **BD Schaedler Agar / Schaedler KV Agar, with 5% Sheep Blood** (Biplate) est utilisée pour l'isolement primaire des anaérobies stricts et des bâtonnets Gram négatifs strictement anaérobies à partir d'échantillons cliniques.⁵⁻⁸

REACTIFS

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

Formule* par litre d'eau purifiée

| Schaedler Agar with 5% Sheep Blood | | | |
|---------------------------------------|-------|-----------------------------------|------|
| Digestion pancréatique de caséine | 8,2 g | L-Cystine | 0,4 |
| Digestion peptique de tissu animal | 2,5 | Hémine | 0,01 |
| Digestion papaïque de semoule de soja | 1,0 | Vitamine K 1 | 0,01 |
| Glucose | 5,8 | Tris (hydroxyméthyl) aminométhane | 3,0 |
| Extrait de levure | 5,0 | Gélose | 13,5 |
| Chlorure de sodium | 1,7 | Sang de mouton, défibriné | 5 % |
| Phosphate bipotassique | 0,8 | | |

pH de 7,6 ± 0,2

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

En plus des éléments répertoriés ci-dessus, la **Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood** contient 0,1 g/L de kanamycine et 0,075 g/L de vancomycine.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les boîtes peuvent êtreensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.

Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus de détails, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber pendant 48 à 72 h en atmosphère anaérobie (p. ex. avec le **BD GasPak Anaerobic System**).

| Souches | Schaedler Agar with 5% Sheep Blood | Schaedler Agar with 5% Sheep Blood |
|--|--|---|
| <i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285 | Croissance bonne à importante, colonies de couleur gris-blanc | Croissance bonne à importante, colonies de couleur gris-blanc |
| <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29741 | Croissance bonne à importante, colonies de couleur gris-blanc | Croissance bonne à importante, colonies de couleur gris-blanc |
| <i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124 | Croissance bonne à importante, grande taille, aspect lobulé, colonies de couleur gris-blanc, bêta-hémolyse (double zone) | Inhibition partielle à complète |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586 | Croissance bonne à importante, colonies de couleur gris-blanc entourées de zones gris foncé | Inhibition partielle à complète |
| <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337 | Croissance bonne à importante, colonies de couleur tirant sur le blanc | Inhibition complète |
| <i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147 | Croissance moyenne à bonne, colonies de couleur blanc sale à gris-marron | Inhibition partielle à complète |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | Croissance | Inhibition complète |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | Croissance | Inhibition complète |
| <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453 | Croissance ; essaimage | Inhibition partielle à complète ; essaimage inhibé |
| Sans ensemencement | Rouge à rouge foncé (couleur sang) | |

METHODE

Matériaux fournis

BD Schaedler Agar / Schaedler KV Agar, with 5% Sheep Blood (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm, divisées en deux compartiments). Produits contrôlés microbiologiquement. Pour l'identification des milieux contenus dans cette boîte de Pétri à 2 compartiments, la **Schaedler Agar** est repérée d'une étiquette à point noir.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Cette boîte de Pétri à 2 compartiments contient deux milieux utilisés pour l'isolement primaire d'anaérobies stricts et convient à tous les types d'échantillons bactériologiques appropriés (voir aussi **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**).

Respecter les techniques approuvées de prélèvement et de transport des échantillons anaérobies.⁵⁻¹² Il convient d'utiliser un milieu de transport adéquat, tel que le **BD Port-A-Cul**.

Mode opératoire du test

Strier les échantillons sans attendre, dès leur arrivée au laboratoire. La méthode de la striation des milieux en boîte de Pétri sert essentiellement à isoler des cultures pures à partir d'échantillons contenant une flore mixte.

Pour ensemercer la boîte de Pétri divisée en deux compartiments avec des écouvillonnages, rouler l'écouvillon sur une petite portion de la **Schaedler Agar with 5% Sheep Blood**, puis le rouler sur une petite portion de **Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood**. A l'aide d'une anse, strier à partir de la zoneensemencée, d'abord la **Schaedler Agar with 5% Sheep Blood**, puis la **Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood**. L'utilisation d'un système anaérobie **BD GasPak** garantit l'obtention simple et efficace de conditions anaérobies appropriées. Indépendamment du système anaérobie utilisé, il est important d'inclure un indicateur d'anaérobiose tel que l'indicateur anaérobie jetable **GasPak**.

Incuber les boîtes de Pétri dans une atmosphère anaérobie, entre 35 et 37 °C, pendant 48 h minimum et 7 jours maximum avant de déclarer un résultat négatif.

Lorsqu'il sert de milieu de référence pour les bactéries se développant en aérobie, l'échantillon doit être strié sur la **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** incubée en conditions aérobie avec 5 à 10 % de dioxyde de carbone.

Résultats

Après l'incubation, la plupart des boîtes de Pétri présentent une zone de croissance agglomérée. La procédure de striation étant, en réalité, une technique de « dilution », des nombres décroissants de microorganismes sont progressivement déposés dans les zones striées. De ce fait, une ou plusieurs de ces zones doivent présenter des colonies isolées des microorganismes présents dans l'échantillon. En outre, la prolifération de chaque organisme peut être mesurée semi-quantitativement sur la base de la croissance dans chaque zone striée.

Tous les anaérobies stricts et tous les anaérobies facultatifs se développent sur la **BD Schaedler Agar with 5% Sheep Blood**. La croissance dans ce milieu est comparée à celle dans la **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** incubée en conditions aérobie, qui contient seulement des anaérobies facultatifs. Et enfin, la croissance obtenue sur la **Schaedler KV Agar with 5 % Sheep Blood** est comparée à celle observée sur les deux autres milieux. Si des cultures mixtes d'anaérobies stricts et facultatifs sont détectées, il convient d'effectuer des sous-cultures correspondantes à partir du milieu anaérobie. Il faut pour cela employer des milieux non sélectifs, incubés en conditions aérobie et en anaérobie, afin de confirmer le caractère anaérobie strict de l'isolat.

Pour plus d'informations sur les procédures de différenciation et d'identification, consulter les documents appropriés.⁷⁻¹³

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Schaedler Agar / Schaedler KV Agar, with 5% Sheep Blood** (biplate) offre deux milieux d'isolement standard, l'un pour les bactéries strictement anaérobies, l'autre pour les bâtonnets Gram négatifs strictement anaérobies.^{5-8,10-13}

La Schaedler Agar with 5% Sheep Blood, l'un des milieux standard utilisés pour l'isolement des anaérobies stricts, autorise le développement des *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, des bâtonnets non sporulés strictement

anaérobies (p. ex. le genre anciennement désigné *Eubacterium*), des *Mobiluncus*, *Actinomyces* et de bien d'autres microorganismes.

Remarque : le taux de croissance des anaérobies stricts varie considérablement. Si *Bacteroides fragilis* se développe bien après 24 h, *Mobiluncus* ou les souches de *Porphyromonas* requièrent 4 à 5 jours et *Actinomyces* nécessite 1 à 3 semaines pour produire des colonies bien visibles. Si les cultures s'avèrent négatives après 2 ou 3 jours d'incubation, incuber à nouveau en conditions anaérobies pendant 2 à 3 jours supplémentaires. Si la présence d'*Actinomyces* est présumée, des cultures spéciales doivent être ensemencées et examinées après 1, 2 voire 3 semaines d'incubation.

Ce milieu n'est pas particulièrement sélectif pour les anaérobies stricts ; des microorganismes facultatifs vont également se développer. Par conséquent, si des cultures mixtes sont repérées, il est important de comparer le résultat de la culture en conditions anaérobies avec celui d'une boîte de Pétri incubée en conditions aérobie.

La *Schaedler Agar with 5% Sheep blood* contient une concentration élevée de glucose qui favorise la croissance rapide des microorganismes saccharolytiques. Cela peut toutefois compromettre la viabilité des microorganismes exposés aux acides accumulés lors du métabolisme bactérien.⁸

La *Schaedler KV Agar with 5% Sheep blood* est propice au développement de toutes les espèces du groupe des *Bacteroides fragilis*, des *Prevotella* spp. telles que *P. bivia*, *P. disiens*, *P. denticola*, *P. buccae*, du groupe *Prevotella melaninogenica* et de plusieurs autres anaérobies Gram négatifs stricts. Consultez les documents cités en référence pour la taxonomie récente.¹²

Les *Fusobacterium* spp. peuvent se développer ou pas, selon la sensibilité des souches individuelles aux antimicrobiens.⁷

En général, la concentration de vancomycine (7,5 mg/mL) inhibe les *Porphyromonas* spp. et les fusobactéries.^{7,13}

Des anaérobies facultatifs résistants aux aminoglycosides peuvent se développer dans ce milieu.

Il est certes possible de procéder à divers tests diagnostiques directement dans la **BD Schaedler Agar / Schaedler KV Agar, with 5% Sheep Blood** (biplate) mais, pour obtenir une identification complète, il convient d'employer des tests biochimiques et, si nécessaire, immunologiques faisant appel à des cultures pures.

REFERENCES

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 Microbiology, 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. Tenenbaum (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. 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. Tenenbaum (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.

CONDITIONNEMENT

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

N° réf. 254476

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.



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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company