

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

**BD Schaedler Agar / Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)** (agar Schaedler / agar Schaedler KV con 5% di sangue di montone su piastra doppia) è utilizzato per l'isolamento non selettivo di anaerobi e per l'isolamento selettivo di bacilli anaerobi Gram-negativi, specialmente *Bacteroides* e *Prevotella* spp., oltre a numerosi altri anaerobi Gram-negativi.

**PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA**

Metodo microbiologico.

Agar Schaedler con 5% di sangue di montone è un terreno altamente nutritivo allestito specificamente per la crescita di anaerobi obbligati come lattobacilli, streptococchi, *Clostridium* e *Bacteroides*.<sup>1-3</sup> Con aggiunta di vitamina K1 ed emina, costituisce la base di numerosi terreni selettivi, incluso l'agar Schaedler KV con 5% di sangue di montone.

Nell'agar Schaedler con 5% di sangue di montone i nutrienti sono costituiti da tre peptoni, mentre l'energia è fornita dal glucosio. Il tampone tris viene aggiunto per evitare che il pH scenda eccessivamente durante la fermentazione del glucosio. L'estratto di lievito costituisce una ricca fonte di vitamine. L'emina e il sangue di montone forniscono l'eme necessario per numerosi anaerobi stretti e altre sostanze che promuovono la crescita. L'aggiunta di vitamina K è una modifica necessaria per consentire la crescita di alcuni ceppi di *Prevotella melaninogenica* (*Bacteroides melaninogenicus*) e stimolare lo sviluppo di alcuni ceppi di *Bacteroides* e non sporigeni Gram-positivi.<sup>4,5</sup> Il cloruro di sodio fornisce gli elettroliti essenziali.

Il terreno è ampiamente utilizzato come base non selettiva altamente nutritiva per l'isolamento di anaerobi stretti.

Agar Schaedler KV con 5% di sangue di montone contiene la stessa base dell'agar Schaedler con 5% di sangue di montone, con aggiunta di kanamicina e vancomicina. La kanamicina inibisce gli anaerobi facoltativi Gram-negativi e diversi altri batteri facoltativi, mentre la vancomicina inibisce i batteri Gram-positivi. L'aggiunta di questi antibiotici rende il terreno selettivo per gli anaerobi stretti Gram-negativi, come *Bacteroides* e *Prevotella*.<sup>3,5-8</sup>

**BD Schaedler Agar / Schaedler KV Agar, with 5% Sheep Blood (Biplate)** sono utilizzati per l'isolamento primario di anaerobi stretti e bacilli anaerobi stretti Gram-negativi da campioni clinici.<sup>5-8</sup>

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

Formula\* per litro di acqua purificata

<b>Schaedler Agar with 5% Sheep Blood</b>			
Digerito pancreatico di caseina	8,2 g	L-cistina	0,4
Digerito peptico di tessuto animale	2,5	Emina	0,01
Digerito papaico di farina di soia	1,0	Vitamina K 1	0,01
Glucosio	5,8	Tris (idrossimetil) aminometano	3,0
Estratto di lievito	5,0	Agar	13,5
Cloruro di sodio	1,7	Sangue defibrinato di montone	5%
Fosfato dipotassico	0,8		

pH 7,6 ± 0,2

\*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

Agar Schaedler KV con 5% di sangue di montone contiene, oltre agli ingredienti elencati, anche 0,1 g/L di kanamicina e 0,075 g/L di vancomicina.

## PRECAUZIONI

**IVD** . Solo per uso professionale.

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazioni di colore, essiccamento, incrinature o altri segni di deterioramento.

Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

## CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

## CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **INFORMAZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare per 48 – 72 h in atmosfera anaerobica (ad es. usando il sistema anaerobico **BD GasPak**).

Ceppi	Agar Schaedler con 5% di sangue di montone	Agar Schaedler KV con 5% di sangue di montone
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crescita da buona a eccellente, colonie bianco-grigie	Crescita da buona a eccellente, colonie bianco-grigie
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	Crescita da buona a eccellente, colonie bianco-grigie	Crescita da buona a eccellente, colonie bianco-grigie
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Crescita da buona a eccellente, colonie grandi, lobate e bianco-grigie, con beta emolisi (doppia zona)	Inibizione da parziale a completa
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Crescita da buona a eccellente, colonie bianco-grigie circondate da zone grigio scure	Inibizione da parziale a completa
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Crescita da buona a eccellente, colonie biancastre	Inibizione completa
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Crescita da discreta a buona, colonie di colore da biancastro sporco a marrone grigio	Inibizione da parziale a completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescita	Inibizione completa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crescita	Inibizione completa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Crescita, sciamatura	Inibizione da parziale a completa, sciamatura inibita
Non inoculate	Da rosso a rosso scuro (color sangue)	

## PROCEDURA

### Materiali forniti

**BD Schaedler Agar / Schaedler KV Agar, with 5% Sheep Blood** (piastre doppie impilate **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate. L'agar Schaedler viene marcato con un punto nero per identificare i terreni sulla piastra doppia.

### Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

## Tipi di campioni

La piastra doppia contiene due terreni per l'isolamento primario di anaerobi stretti e può essere usata con gli opportuni campioni batteriologici (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**). Attenersi alle procedure approvate per il prelievo e il trasporto di campioni anaerobi.<sup>5-12</sup> Utilizzare terreni di trasporto adatti, ad es. **BD Port-A-Cul**.

## Procedura del test

Strisciare il campione non appena viene consegnato in laboratorio. La piastra strisciata è utilizzata prevalentemente per isolare le colture pure dai campioni contenenti flora mista. Per inoculare i campioni sulla piastra doppia, passare il tampone su una piccola area di agar Schaedler con 5% di sangue di montone e successivamente su una piccola superficie di agar Schaedler KV con 5% di sangue di montone. Strisciare con un'ansa dall'area inocolata, dapprima su agar Schaedler con 5% di sangue di montone, quindi su agar Schaedler KV con 5% di sangue di montone. Un modo funzionale e semplice per creare le condizioni anaerobiche desiderate è il sistema anaerobico **BD GasPak**. Quale che sia il sistema anaerobico usato, è importante aggiungere un indicatore di anaerobiosi, come l'indicatore anaerobico monouso **GasPak**.

Incubare le piastre in atmosfera anaerobica a 35 – 37 °C per almeno 48 h e fino a 7 giorni prima di considerarle negative.

Come controllo per i batteri a crescita aerobica, strisciare il campione su **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** e incubare aerobicamente con 5 – 10% di anidride carbonica.

## Risultati

Dopo l'incubazione, in molte piastre si nota un'area di crescita convergente. In effetti, lo striscio è una tecnica di "diluizione", per cui sulle aree strisciate si deposita un numero decrescente di microrganismi. Una o più di queste aree, quindi, dovrebbero mostrare alcune colonie isolate dei microrganismi contenuti nel campione. Inoltre, la crescita di ciascun organismo può essere misurata in maniera semi-quantitativa in base alla crescita nelle singole aree strisciate.

Su agar Schaedler con 5% di sangue di montone crescono tutti gli anaerobi stretti e facoltativi. La crescita su questo terreno viene confrontata con quella su **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** incubato aerobicamente, che contiene solo anaerobi facoltativi. La crescita su agar Schaedler KV con 5% di sangue di montone viene infine confrontata con la crescita sugli altri due terreni. Se sono presenti colture miste di anaerobi stretti e facoltativi, trasferire dai terreni anaerobi le appropriate subcolture su terreni non selettivi, incubati aerobicamente e anaerobicamente, per controllare se l'isolato è un anaerobio stretto.

Per ulteriori informazioni sulle procedure di differenziazione e identificazione, consultare i testi appropriati.<sup>7-13</sup>

## PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

**BD Schaedler Agar / Schaedler KV Agar, with 5% Sheep Blood** (Biplate) sono due terreni di isolamento standard: uno per batteri anaerobi stretti, l'altro per bacilli anaerobi stretti Gram-negativi.<sup>5-8,10-13</sup>

Su agar Schaedler con 5% di sangue di montone, terreno base per l'isolamento di anaerobi stretti, crescono *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, bacilli non sporigeni anaerobi stretti (ad es. il genere denominato in passato *Eubacterium*), *Mobiluncus*, *Actinomyces* e molti altri ancora.

I tassi di crescita degli anaerobi stretti variano considerevolmente: mentre *Bacteroides fragilis* crescono bene dopo 24 h, *Mobiluncus* o i ceppi di *Porphyromonas* necessitano da 4 a 5 giorni e *Actinomyces* possono richiedere da 1 a 3 settimane per produrre colonie ben visibili. Se le colture sono negative dopo 2 o 3 giorni di incubazione, incubare di nuovo anaerobicamente per altri 2 – 3 giorni. Se si sospetta la presenza di *Actinomyces*, inoculare alcune colture specifiche e controllare dopo 1, 2 e infine 3 settimane di incubazione.

Il terreno non è selettivo specificamente per anaerobi stretti e consente lo sviluppo di microrganismi facoltativi. Se si ottengono colture miste, pertanto, è essenziale confrontare i risultati della coltura anaerobica con i risultati di una piastra incubata aerobicamente.

Agar Schaedler con 5% di sangue di montone contiene una elevata concentrazione di glucosio, che alimenta la crescita rapida dei germi saccarolitici ma può compromettere la vitalità dei microrganismi esposti agli acidi accumulati durante il metabolismo batterico.<sup>8</sup>

Su agar Schaedler KV con 5% di sangue di montone crescono tutte le specie di *Bacteroides fragilis*, *Prevotella* spp. come *P. bivia*, *P. disiens*, *P. denticola*, *P. buccae*, il genere *Prevotella melaninogenica* e diversi altri anaerobi stretti Gram-negativi. Per la tassonomia di recente applicazione, consultare la bibliografia.<sup>12</sup>

Possono svilupparsi anche *Fusobacterium* spp. a seconda della sensibilità dei singoli ceppi agli agenti antimicrobici.<sup>7</sup>

In genere, la concentrazione di vancomicina (7,5 mg/mL) inibisce *Porphyromonas* spp. e *Fusobacterium*.<sup>7,13</sup>

Su questo terreno possono crescere anaerobi facoltativi resistenti agli aminoglicosidi.

Benché sia possibile eseguire alcuni test diagnostici direttamente sul **BD Schaedler Agar / Schaedler KV, with 5% Sheep Blood** (Biplate), per completare l'identificazione è necessario effettuare test biochimici e, all'occorrenza, immunologici usando colture pure.

## BIBLIOGRAFIA

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. Tenover (ed.). 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8<sup>th</sup> 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. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology*, 8<sup>th</sup> ed. 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.

## CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

**BD Schaedler Agar / Schaedler KV Agar, with 5% Sheep Blood** (Biplate),  
N. di cat. 254476 Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

## ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



**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