

BD CDC Anaerobe Agar + 5% Sheep Blood

TILSIGTET BRUG

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood (anaerobt agar med 5 % fåreblod) er et ikke-selektivt medium til isolering og dyrkning af kræsne, bundne anaerobe bakterier fra kliniske præparater.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

CDC anaerobt agar med 5 % fåreblod blev formuleret af Dowell et al. fra Centers for Disease Control and Prevention som et næringsrigt, ikke-selektivt medium til isolering og dyrkning af bundne anaerobe mikroorganismer, særligt dem, der findes i kliniske materialer.¹⁻⁴ Mediet indeholder **Trypticase** Soy Agar (sojaagar) med yderligere tilsat agar som næringsgrundlag. Natriumchlorid opretholder osmotisk ligevægt. Fåreblod, hæmin, cystin og K1-vitamin giver de vækstfaktorer, der kræves af visse bundne anaerobe organismer.^{1, 5-7} Forbedret vækst af *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium haemolyticum*, samt visse stammer af *Actinomyces israelii* og *Bacteroides thetaotaomicron* er blevet påvist på dette medium.² Desuden er der rapporteret en mindre glat til grov kolonivariation af *Bacteroides fragilis* på dette medium end på Schaedler-blodagar.⁵

REAGENSER

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood

Formel* pr. liter rensset vand

Pankreatisk fordøjelse af kasein	15,0 g
Papain-fordøjelse af sojabønneemel	5.0
Natriumchlorid	5.0
Agar	20.0
Gærekstrakt	5.0
Hæmin	0.005
K1-vitamin	0.01
L-cystin	0.4
Fåreblod, defibrineret	5%

pH 7,5 ± 0,2

*Justeret og/eller suppleret efter behov for at opfylde funktionskriterierne.

FORHOLDSREGLER

IVD . Kun til professionel brug. 

Pladerne må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring, brud eller andre tegn på nedbrydning.

Se dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for procedurer om aseptisk håndtering, biologiske farer og bortskaffelse af brugte produkter.

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Pladerne opbevares efter modtagelse i mørke ved 2 – 8 °C i deres originale hylsterindpakning indtil umiddelbart inden ibrugtagning. Undgå nedfrysning og overophedning. Pladerne kan inokuleres indtil udløbsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalede inkubationstider.

Plader fra åbnede stabler med 10 plader kan bruges i en uge, når de opbevares i et rent område ved 2 – 8 °C.

BRUGERKVALITETSKONTROL

Inokuler repræsentative prøver med følgende stammer (se dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for at få detaljer). Inkuber i 48 – 72 timer i en anaerob atmosfære (f.eks. **BD GasPak** Anaerobic System (anaerobt system)).

Stammer	Vækstresultater
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Vækst god til fortrinlig
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Vækst god til fortrinlig
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Vækst god til fortrinlig
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Vækst god til fortrinlig
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Vækst rimelig til god
Ikke-inokuleret	Rød til mørkerød (blodfarve)

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood (90 mm **Stacker**-plader). Mikrobiologisk kontrolleret.

Materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpedyrkningsmedier, reagenser og laboratorieudstyr efter behov.

Præparattyper

Dette er et ikke-selektivt medium til isoleringen og dyrkningen af strengt anaerobe organismer fra alle typer af kliniske præparater (se også **FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**). Anvend godkendte teknikker til udvælgelse, indsamling og transport af anaerobe prøver.⁸⁻¹⁰ Velegnede transportmedier, f.eks. **BD Port-A-Cul™**, skal anvendes.

Testprocedure

Udstryg præparatet så hurtigt som muligt efter modtagelse i laboratoriet. Udstrygningspladen anvendes primært til at isolere rene kulturer fra præparater, der indeholder blandet flora. Hvis materialet dyrkes direkte fra en podepind, kan podepinden rulles over et lille område på overfladen ved kanten. Derefter udstryges der for isolation fra dette inokulerede område. Ved isolering af strengt anaerobe bakterier anbefales brug af mindst to medier for alle præparater. Én plade, **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**, inkuberes anaerobt efter inokulering. Den anden plade, f.eks. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (agar med 5 % fåreblod), skal inkuberes aerobt med 5 – 10 % kuldioxid for isolering af aerobe patogener, som kan være til stede. Derudover bør et selektivt, anaerobt medium for gram-negative, strengt anaerobe organismer, f.eks. **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** (kanamycin-vancomycin-agar med 5 % fåreblod), også inokuleres. Brug af **BD GasPak** anaerobe systemer er en effektiv og let måde at opnå egnede anaerobe forhold på. Uanset det anvendte anaerobe system er det vigtigt at inkludere en indikator af anaerobiose, f.eks. **GasPak** anaerobe indikator til engangsbrug. Der henvises til litteraturen for yderligere detaljer om præparatbehandling.^{8-10,12,13} Inkuber plader i den passende atmosfære ved 35 – 37 °C i mindst 48 t og op til 7 dage, inden de antages for at være negative.

Resultater

Efter inkubation vil de fleste plader have et område med konfluent vækst. Fordi udstrygningsproceduren faktisk er en "fortyndings"-teknik, reduceres antallet af mikroorganismer på de udstrøgne områder. Som følge heraf bør ét eller flere af disse områder udvise isolerede kolonier af organismene indeholdt i præparatet. Yderligere kan vækst af hver organisme scores semikvantitativt på basis af vækst i hvert af de udstrøgne områder.

På **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** vil alle strengt og alle fakultativt anaerobe organismer vokse. Væksten på dette anaerobe medium sammenlignes med den på den aerobt inkuberede plade med **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, som kun vil indeholde de fakultativt anaerobe organismer. Vækst på **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** sammenlignes til sidst med væksten på de andre to medier. Hvis blandede kulturer af strengt og fakultativt anaerobe organismer er til stede, skal der fra de anaerobe medier laves passende subkulturer på ikke-selektive medier, der er inkuberet aerobt og anaerobt, for at bekræfte at isolatet er en streng anaerob.

Yderligere differentierings- og identifikationsprocedurer kan findes i de relevante tekster.^{8-10,14}

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood er et af de ikke-selektive standardmedier til isolering af strenge anaerobes. Herpå vil *bacteroider*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, strengt anaerobe ikke-sporeformende stave (f.eks., den tidligere slægt *Eubacterium*), *Mobiluncus*, *Actinomyces* og mange andre vokse.^{4,9,10,14-16}

Bemærk, at vækstraten for strengt anaerobe organismer varierer betydeligt: Mens *Bacteroides fragilis* vokser godt efter 24 t, har *Mobiluncus* eller *Porphyromonas*-stammer brug for 4 til 5 dage, og *Actinomyces* vil måske kræve 1 – 3 uger eller længere for at producere godt synlige kolonier. Hvis kulturer er negative efter 2 – 3 dages inkubation, inkuberes de igen anaerobt i yderligere 2 – 3 dage. Hvis der var mistanke om *Actinomyces*, skulle særlige kulturer inokuleres og undersøges efter en, to og eventuelt tre ugers inkubation.

Dette medium er ikke specifikt selektivt for strengt anaerobe organismer. Når det inkuberes anaerobt, vil fakultative organismer også vokse på dette medium. Derfor er det vigtigt at sammenligne resultaterne fra den anaerobe kultur med resultaterne fra en aerobt inkuberet plade, hvis blandede kulturer opnås.

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood indeholder ikke glucose eller andre sukkerarter. Derfor vil stærkt saccharolytiske organismer, f.eks. lactobaciller og visse saccharolytiske clostridia, vokse temmelig langsomt på dette medium. **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** er det foretrukne medium til den ikke-selektive isolering af disse organismer.

Antallet og typerne af de bakteriearter, der forekommer som smittefarlige, er meget store. Derfor bør dette medies egnethed først testes for sjældent isolerede eller nyligt beskrevne mikroorganismer inden rutinemæssig brug, ved at brugeren dyrker rene kulturer af den givne organisme.

LITTERATUR

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.

EMBALLERING/BESTILLING

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood

Katalognummer 256506

Plademedier klar til brug, cpu 20

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For further information please contact your local BD representative.



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

© 2013 BD