BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood (Schaedler-KV Agar)

PRZEZNACZENIE

BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood służy do selektywnej izolacji *Bacteroides, Prevotella* i szeregu innych Gram-ujemnych beztlenowców z próbek klinicznych.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

Podstawowym składnikiem podłoża Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood jest agar Schaedlera, podłoże o dużej zawartości składników odżywczych, specjalnie opracowane do hodowli beztlenowców bezwzględnych.[1,2] Dzięki dodatkowi witaminy K1 i heminy, podłoże stanowi podstawę szeregu pożywek selektywnych, w tym Schaedler-KV Agar with 5% Sheep Blood. Połączenie kanamycyny i wankomycyny do selektywnego izolowania beztlenowców Gram-ujemnych zostało po raz pierwszy opisane przez Finegolda i wsp.[3]

W podłożu **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** źródłem składników odżywczych są trzy peptony, a źródło energii stanowi glukoza. Dołączony jest także bufor Tris zabezpieczający przed nadmiernym spadkiem pH podczas fermentacji glukozy. Wyciąg drożdżowy jest bogatym źródłem witamin. Hemina i krew owcza stanowią źródło hemu (niezbędnego składnika umożliwiającego wzrost beztlenowców obligatoryjnych) i dodatkowych substancji wzrostowych. Witamina K jest uznawana za składnik ułatwiający wzrost wielu beztlenowców Gram-ujemnych.[4,5] Chlorek sodu jest źródłem podstawowych elektrolitów. Kanamycyna hamuje wzrost Gram-ujemnych szczepów beztlenowców fakultatywnych i kilku innych gatunków beztlenowców fakultatywnych, natomiast wankomycyna hamuje wzrost bakterii Gram-dodatnich. Dzięki obecności tych antybiotyków podłoże pozwala na selektywną hodowlę Gram-ujemnych beztlenowców obligatoryjnych, np. *Bacteroides* i *Prevotella*.[3, 5-7]

ODCZYNNIKI

BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood

Skład* w przeliczeniu na jeden litr wody oczyszczonej

Trzustkowy hydrolizat kazeiny	8,2 g	Hemina	0,01 g
Hydrolizat pepsynowy tkanki zwierzęcej	2,5	Witamina K1	0,01
Hydrolizat papainowy mączki sojowej	1,0	Tris(-hydroksymetyloaminometan)	3,0
Glukoza	5,8	Agar	13,5
Wyciąg drożdżowy	5,0	Kanamycyna	0,1
Chlorek sodu	1,7	Wankomycyna	0,0075
Wodorofosforan potasu	0,8	Krew owcza pozbawiona włóknika	5%
L-cystyna	0,4		

pH 7,6 ± 0,2

*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych.

Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne objawy świadczące o skażeniu mikrobiologicznym, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.

Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**.

PRZECHOWYWANIE I DOPUSZCZALNY OKRES PRZECHOWYWANIA

Po otrzymaniu, płytki należy przechowywać w ciemnym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C, w ich oryginalnym opakowaniu izolującym do chwili użycia. Unikać zamrażania i przegrzewania. Posiewu na płytki można dokonywać aż do daty ważności (patrz etykieta na opakowaniu) i inkubować w zalecanych czasach inkubacji.
Płytek z otwartych stosów zawierających po 10 płytek można używać przez okres jednego tygodnia, przechowując w czystym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Na płytki posiewa się próbki reprezentatywne niżej wymienionych szczepów (szczegółowe informacje – zobacz dokument **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**). Inkubować przez 48–72 godziny w atmosferze beztlenowej (np. system beztlenowy **BD GasPak**).

Szczepy bakteryjne	**Wzrost**
Bacteroides fragilis ATCC 25285	Wzrost dobry lub bardzo dobry
Bacteroides thetaiotaomicron ATCC 29741	Wzrost dobry lub bardzo dobry
Clostridium perfringens ATCC 13124	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu
Peptostreptococcus anaerobius ATCC 27337	Całkowite zahamowanie wzrostu
Escherichia coli ATCC 25922	Całkowite zahamowanie wzrostu
Proteus mirabilis ATCC 12453	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu; całkowite zahamowanie stopniowego wzrostu kolonii
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Całkowite zahamowanie wzrostu
Bez posiewu	Zabarwienie czerwone (kolor krwi)

PROCEDURA

Dostarczane materiały

Podłoże **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** (płytki **Stacker** 90 mm). Sprawdzane pod kątem obecności mikroorganizmów.

Materiały niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki i wyposażenie laboratoryjne, w tym systemy do inkubacji beztlenowej, zgodnie z wymaganiami.

Typy próbek

Produkt ten jest selektywnym podłożem do hodowli obligatoryjnie beztlenowych pałeczek Gram-ujemnych, nadającym się do wszystkich odpowiednich typów próbek (patrz także **CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY**). Należy stosować zatwierdzone techniki pobierania i transportu próbek bakterii beztlenowych (np. **BD Port-A-Cul**).[7-12]

Procedura testowa

Wykonać posiew próbki możliwie jak najszybciej po dostarczeniu materiału do laboratorium. Płytka do posiewu służy przede wszystkim do izolowania czystych kultur z próbek zawierających florę mieszaną. Ewentualnie, jeżeli materiał jest posiewany bezpośrednio z wymazówki, należy przetoczyć wymazówkę po niewielkiej powierzchni na krawędzi płytki, a następnie wykonać posiew przez rozprowadzenie po podłożu. Należy wykonać także posiew i inkubację w atmosferze beztlenowej na podłożu nieselektywnym, takim jak **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** lub **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**, w celu wykrycia innych drobnoustrojów beztlenowych występujących w próbce. Inkubację należy rozpocząć niezwłocznie po wykonaniu posiewu i prowadzić w warunkach beztlenowych, w temperaturze 35–37°C przez 2–3 dni. Skutecznym i łatwym sposobem

uzyskania odpowiednich warunków beztlenowych jest zastosowanie systemów beztlenowych **BD GasPak**. Niezależnie od zastosowanego systemu beztlenowego konieczne jest użycie wskaźnika warunków beztlenowych, np. jednorazowego wskaźnika **BD GasPak**. W celu zbadania flory tlenowej należy wykonać posiew na podłoże **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** i przeprowadzić inkubację w warunkach tlenowych z dodatkiem 5–10% dwutlenku węgla. Szczegółowe informacje dotyczące obróbki próbek przedstawiono w piśmiennictwie.[6,7,9-12]

Wyniki

Po inkubacji na większości płytek pojawią się obszary zlewnego wzrostu. W miejscach pasm posiewu drobnoustroje występują w zmniejszonej ilości, ponieważ procedura posiewu pasmowego w rzeczywistości stanowi technikę „rozcieńczeniową". Wskutek tego w kilku miejscach powinny się znaleźć izolowane kolonie drobnoustrojów zawartych w próbce. Ponadto wzrost każdego z drobnoustrojów można oceniać półilościowo na podstawie wzrostu w każdym posianym pasmowo obszarze.

Zidentyfikowanie wyizolowanych drobnoustrojów wymaga wykonania dalszych procedur różnicowania i identyfikacji. Informacje dotyczące dalszych procedur różnicowania i identyfikacji przedstawiono w odpowiednim piśmiennictwie.[5-7,9-12]

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY

Na opisywanym podłożu występuje wzrost wszystkich szczepów *Bacteroides fragilis*, gatunków z rodzaju *Prevotella*, takich jak *P. bivia, P. disiens, P. denticola, P. buccae*, grupy *Prevotella melaninogenica* oraz kilku innych Gram-ujemnych beztlenowców obligatoryjnych.[5-7,9-11,13] Aktualną taksonomię przedstawiono w piśmiennictwie.[7]

Stężenie wankomycyny (7,5 mg/ml) może powodować zahamowanie wzrostu baterii rodzaju *Porphyromonas* oraz wrzecionowców.[7]

Na opisywanym podłożu bywa także obserwowany wzrost beztlenowców fakultatywnych, wykazujących oporność na aminoglikozydy.

Wprawdzie pewne testy diagnostyczne można wykonywać bezpośrednio na opisywanym podłożu, jednak w celu przeprowadzenia pełnej identyfikacji konieczne jest wykonanie badania biochemicznego oraz, jeśli jest to wskazane, badania immunologicznego z użyciem czystych hodowli.

PIŚMIENNICTWO

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. Finegold, S.M., A.B. Miller, and D.J. Posnick. 1965. Further studies on selective media for *Bacteroides* and other anaerobes. Ernährungsforschung 10:517-528.
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. 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. 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. 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.
8. 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. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. 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.

10. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
11. 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.
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. van Winkelhoff, A.J., and J. de Graaff. 1983. Vancomycin as a selective agent for isolation of Bacteroides. J. Clin. Microbiol. 18:1282-1284.

PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood

Nr katalogowy 254023	Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, 20 płytek
Nr katalogowy 254077	Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, 120 płytek

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy się skontaktować z lokalnym przedstawicielem firmy BD.

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 and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD