



BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

USO PREVISTO

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

[BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II con 5% di sangue di montone (doppia piastra)] è un terreno migliorato usato per l'isolamento selettivo di batteri gram-negativi e gram-positivi da campioni clinici.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodica microbiologica.

MacConkey Agar è una delle prime formule (pubblicata nel 1900 da MacConkey) per l'isolamento, la coltura e l'identificazione di *Enterobacteriaceae* e di alcuni batteri non fermentanti. In seguito, il terreno è stato modificato varie volte.^{1,2}

La formulazione MacConkey II Agar è stata concepita nel 1987 per migliorare l'inibizione di specie *Proteus* sciamanti, ottenere una differenziazione più netta dei fermentanti e non fermentanti il lattosio e una crescita migliore degli enterobatteri. In MacConkey II Agar, i peptoni forniscono i nutrienti. Il cristalvioletto viene aggiunto per inibire i batteri gram-positivi, specialmente enterococchi e stafilococchi. La differenziazione dei microrganismi enterici si ottiene mediante combinazione del lattosio con l'indicatore di pH rosso neutro. Vengono prodotte colonie incolori o rosa-rosse, a seconda della capacità dell'isolato di fermentare il carboidrato.³⁻⁵

Nel 1966, Ellner et al. hanno documentato lo sviluppo di una formulazione di agar sangue, definita agar Columbia.⁶ Questo terreno, che consente di ottenere colonie di dimensioni maggiori e una crescita più rigogliosa rispetto a basi agar sangue comparabili, viene utilizzato per terreni contenenti sangue e per formulazioni selettive. Ellner et al. hanno riscontrato che un terreno contenente 10 mg di colistina e 15 mg di acido nalidixico per litro in una base di agar Columbia, arricchito con 5% di sangue di montone, facilita la crescita di stafilococchi, streptococchi emolitici ed enterococchi, mentre inibisce la crescita di specie *Proteus*, *Klebsiella* e *Pseudomonas*.⁶ Nel corso degli anni, la resistenza dei batteri agli antibiotici è aumentata. Ciò è particolarmente vero nel caso dei bacilli gram-negativi i quali, anziché essere inibiti, sviluppano spesso crescita su Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Columbia CNA Agar con 5% di sangue di montone). In Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood è stata aggiunta una piccola quantità di aztreonam allo scopo di mantenere una buona selettività del terreno e la concentrazione di acido nalidixico è stata ridotta a 5,5 mg/L al fine di aumentare il recupero di cocchi gram-positivi, soprattutto stafilococchi. La concentrazione di colistina è rimasta invariata. L'aztreonam è un monobattamico con attività esclusiva per la maggior parte dei batteri gram-negativi e inattivo nei confronti dei microrganismi gram-positivi.⁷⁻⁹ Il sangue di montone consente la rilevazione di reazioni emolitiche, che sono particolarmente importanti nella diagnosi presuntiva di streptococchi.¹⁰

Il principale vantaggio di Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood rispetto a Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood è il miglioramento sia della crescita degli stafilococchi, che sono più frequentemente rilevati dopo 18 – 24 ore di incubazione, sia dell'inibizione dei batteri gram-negativi resistenti, specialmente *Proteus* spp.

La combinazione di questi due terreni in una piastra doppia (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) è usata per l'isolamento selettivo di batteri gram-negativi e gram-positivi da campioni clinici.

REAGENTI

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

Formule* per litro di acqua purificata

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Digerito pancreatico di gelatina	17,0 g	Peptoni	20,0 g
Digerito pancreatico di caseina	1,5	Estratto di lievito	3,5
Digerito peptico di tessuto animale	1,5	Digerito triptico di tessuto cardiaco di bue	3,0
Lattosio	10,0	Amido di granoturco	1,0
Sali biliari	1,5	Cloruro di sodio	5,0
Cloruro di sodio	5,0	Colistina	10,0 mg
Rosso neutro	0,03	Acido nalidixico	5,5
Cristalvioletto	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Sangue defibrinato di montone	5%
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Formulazione aggiustata e/o supplementata per soddisfare i criteri prestazionali.

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale. ☒

Non usare le piastre se presentano segni di contaminazione microbica, discromia, essiccamento, crepe o altri segni di deterioramento.

Per dettagli su procedure di manipolazione asettica, biorischi e smaltimento di 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 al momento dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (vedere l'etichetta della confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate da 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 ceppi di seguito elencati (per informazioni più dettagliate, vedere il documento **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare le piastre, preferibilmente in posizione invertita a 35 – 37 °C in aerobiosi per 18 – 24 h.

Ceppi	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescita da buona a eccellente; colonie da rosa a rosse con precipitati di bile	Inibizione completa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Crescita da buona a eccellente; colonie da beige a brunastre, sciamatura inibita	Inibizione completa
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inibizione (da parziale a) completa	Crescita da buona a eccellente; colonie piccole e grigie
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inibizione completa	Colonie da bianche a giallastre con beta-emolisi
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Non testato	Colonie piccole e grigiastre con beta-emolisi
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Non testato	Colonie piccole da verdi a grigie con alfa-emolisi
Non inoculati	Rosa chiaro, lievemente opalescenti	Rosse, opache

PROCEDURA

Materiali forniti

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (piastre doppie impilate **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

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

Tipi di campioni

I terreni contenuti in questa piastra doppia sono utilizzati per l'isolamento selettivo di numerosi batteri gram-negativi e gram-positivi da tutti i tipi di campioni clinici (vedere anche **CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).

Procedura del test

Strisciare il campione non appena perviene in laboratorio. La piastra con lo striscio viene prevalentemente usata per isolare colture pure da campioni contenenti flora mista.

Per inoculare la piastra doppia con i campioni, passare prima il tampone su una piccola area di Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood e quindi su una superficie ridotta di MacConkey II Agar. Con l'ausilio di un'ansa nuova per ogni terreno, strisciare per ottenere l'isolamento dalle aree inoculate. Incubare in aria ambiente a 35 – 37 °C per 24 – 48 h. Si sconsiglia l'incubazione di questo prodotto in atmosfera aerobica arricchita di anidride carbonica poiché i risultati su agar MacConkey possono risultare diversi da quelli ottenuti con incubazione in aria ambiente.¹¹

Poiché alcuni microrganismi gram-positivi e gram-negativi sono inibiti su entrambi i terreni di questa piastra doppia o non crescono in aria ambiente, si raccomanda di aggiungere una piastra agar sangue non selettiva, ad es. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, incubata a 35 – 37 °C per 24 – 48 h in atmosfera aerobica arricchita di anidride carbonica.

Risultati

I risultati tipici della crescita su **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** sono i seguenti:

Microrganismi	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Da rosa a rosa-rosso (con eventuale alone di precipitati di bile)	Inibizione (da parziale a) completa
<i>Enterobacter</i>	Mucoidi, rosa	Inibizione (da parziale a) completa
<i>Klebsiella</i>	Mucoidi, rosa	Inibizione (da parziale a) completa
<i>Proteus</i>	Incolori, sciamatura inibita	Inibizione (da parziale a) completa; sciamatura inibita
<i>Salmonella</i>	Incolori	Inibizione completa
<i>Shigella</i>	Incolori	Inibizione completa
<i>Pseudomonas</i>	Irregolari, da incolori a rosa	Inibizione (da parziale a) completa
Stafilococchi	Inibizione da parziale a completa	Crescita; colonie da bianche a gialle, di piccole-medie dimensioni, con o senza beta-emolisi
Streptococchi	Inibizione completa	Crescita; colonie di dimensioni da minuscole a medie, con o senza alfa- o beta-emolisi
Enterococchi	Inibizione da parziale a completa	Crescita; colonie di dimensioni da minuscole a medie; eventualmente con bordi grigiastri, in genere non emolitiche

Su questi terreni possono crescere anche altri batteri gram-positivi e gram-negativi non inclusi nel precedente elenco. Per informazioni più dettagliate e interpretazione della crescita, consultare la bibliografia.^{4,10,12}

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD MacConkey II Agar è uno dei terreni normalmente utilizzati per la piastratura primaria di campioni clinici e numerosi materiali non clinici. Su questo terreno crescono tutti i microrganismi della famiglia *Enterobacteriaceae* e molteplici altri bacilli gram-negativi, quali *Pseudomonas* e generi correlati. Su questo terreno non crescono bacilli non fermentanti o altri gram-negativi sensibili agli ingredienti selettivi. Consultare i rispettivi capitoli della bibliografia prima di usare il terreno per microrganismi specifici.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood è un terreno selettivo migliorato per l'isolamento e la coltura di numerosi microrganismi gram-positivi a crescita aerobica, ad es. streptococchi, stafilococchi, *Listeria* spp. e altri, dai campioni clinici. Questo terreno consente una più rapida rilevazione di stafilococchi, enterococchi e streptococchi e una migliore inibizione dei batteri gram-negativi rispetto a Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

Nel corso di valutazioni interne delle prestazioni, 38 ceppi (isolati clinici e ceppi di raccolta) di batteri gram-positivi appartenenti alle specie indicate nella Tabella 1 e numerosi batteri gram-negativi sono stati sottoposti a test di crescita su **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)** è stato usato come terreno di riferimento per la crescita. Le piastre sono state incubate in atmosfera aerobica per 18 – 24 h a 35 – 37 °C.

I ceppi *Proteus* chinolone-resistenti sono stati completamente inibiti su Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, ma hanno sviluppato una crescita intensa su MacConkey II Agar e Columbia Agar.

Le dimensioni delle colonie e le zone emolitiche su Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood sono risultate comparabili a quelle su Columbia Agar. Tutti i ceppi gram-positivi eccetto *Corynebacterium diphtheriae* hanno sviluppato crescita su Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood entro 18 – 20 ore di incubazione aerobica e sono stati completamente inibiti su MacConkey II Agar. Per l'incubazione di *C. diphtheriae* sono state necessarie 42 ore. Per i test comprendenti stafilococchi sono stati necessari 2 giorni di incubazione su Columbia CNA Agar regolare.

Tabella 1: specie gram-positiva testate e recuperate su BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (incubazione aerobica)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus</i> di gruppo C
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus</i> di gruppo G
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>	
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	

* 48 ore di incubazione necessarie per la rilevazione su **CNA-II** e **CNA**.

Limitazioni: Su questo terreno possono crescere batteri gram-negativi resistenti agli ingredienti selettivi.

Candida spp. e altri funghi non sono inibiti su questo terreno.

Pur essendo batteri gram-positivi, i ceppi aerobi sporigeni, come ad esempio *Bacillus* spp., possono essere inibiti su Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Per il genere *Corynebacterium* possono essere necessarie 42 – 48 ore di incubazione su Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Per la crescita di alcuni streptococchi, quali *Streptococcus intermedius* e *Streptococcus milleri* è necessaria un'atmosfera anaerobica o arricchita di CO₂.

Il terreno Columbia Agar base ha un contenuto di carboidrati relativamente elevato. Gli streptococchi beta-emolitici possono pertanto sviluppare una reazione emolitica verdastra erroneamente interpretabile come alfa-emolisi su Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Sebbene su uno dei terreni contenuti in **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** cresca un'ampia gamma di batteri gram-negativi e gram-positivi, si raccomanda l'aggiunta di un terreno non selettivo per l'isolamento primario di tutti i patogeni eventualmente presenti in un campione.¹⁰ **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** è un terreno non selettivo spesso impiegato per la piastratura primaria che può essere utilizzato a tal fine. Per l'isolamento di microrganismi esigenti, come per esempio *Neisseria* o

Haemophilus, è opportuno inoculare con il campione una piastra di agar cioccolato, ad es. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)**, ogni qualvolta se ne sospetti la presenza.

È stato riscontrato che alcuni ceppi di *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa* sono inibiti su MacConkey Agar allorché incubati in atmosfera arricchita di CO₂.¹¹ Si raccomanda pertanto di non incubare **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** in atmosfera arricchita di CO₂.

In alcune piastre con forte crescita di stafilococchi sul terreno Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood e nessuna crescita su MacConkey II Agar, è stata osservata una decolorazione del terreno MacConkey II Agar. Ciò non ha alcun effetto negativo sul recupero e sulla colorazione tipica di colonie di batteri gram-negativi su MacConkey II Agar.

Sebbene alcuni test diagnostici possano essere eseguiti direttamente su questi terreni, ai fini di un'identificazione completa degli isolati sono necessari test biochimici e, ove indicato, immunologici usando colture pure.

BIBLIOGRAFIA

1. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
4. Farmer, J.J., III., K.D. Boatwright, and J.M. Janda 2007. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M.L. Landry, J.H. Jorgensen, and M. A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.
6. 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.
7. Wood, W., G. Harvey, E.S. Olson, and T.M. Reid. 1993. Aztreonam selective agar for Gram positive bacteria. J. Clin. Pathol. 46: 769-771.
8. Wiedemann, B., and B. A. Atkinson. 1986. Susceptibility to antibiotics: species incidence and trends. In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 962-1208. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
9. von Graevenitz, A. 1986. Use of antimicrobial agents as tools in epidemiology, identification, and selection of microorganisms. In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 723-738. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
10. Spellerberg, B., Brandt, C. 2007. *Streptococcus*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M.L. Landry, J.H. Jorgensen, and M. A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Mazura-Reetz, G. T. Neblett, and J. M. Galperin. 1979. MacConkey Agar: CO₂ vs. ambient incubation. Abst. Ann. Mtg. American Society for Microbiology. C179.
12. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, Clinical microbiology procedures handbook, vol.1, p. 1.6.1-1.6.7. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD MacConkey II Agar / BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

N. Cat.	Descrizione
REF 257574	Terreni su piastra pronti per l'uso, confezioni da 20
REF 257584	Terreni su piastra pronti per l'uso, confezioni da 120

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



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 è un marchio commerciale di American Type Culture Collection

BD, il logo BD Logo e BD MAX sono marchi commerciali di Becton, Dickinson and Company.

© 2015 Becton, Dickinson and Company