



BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood

USO PREVISTO

BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood (agar di Bordet-Gengou con 15% di sangue di montone) e **BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood** (agar per *Bordetella* con carbone e 7% di sangue di cavallo) sono terreni selettivi per l'isolamento di *Bordetella pertussis* e *B. parapertussis*.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Tutte le specie *Bordetella* sono patogeni dell'apparato respiratorio residenti nelle cellule epiteliali ciliate del tratto respiratorio. *B. pertussis* e *B. parapertussis* sono patogeni esclusivi dell'uomo. *B. pertussis* è l'agente eziologico primario della pertosse, mentre *B. parapertussis* è associata a una forma più lieve della malattia. *B. bronchiseptica* è essenzialmente un germe patogeno degli animali, ma nell'uomo può causare bronchiti, polmoniti e infezioni del tratto extrarespiratorio.

L'agar di Bordet-Gengou è una versione modificata del terreno originariamente descritto da Bordet e Gengou per la coltura di *Bordetella pertussis*.¹ **BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood** viene allestito secondo la nuova formulazione consigliata dalla American Public Health Association.² L'infuso di patate fornisce azoto e vitamine per questo terreno. La crescita di *B. pertussis* può essere inibita da numerosi fattori, come gli acidi grassi presenti nelle secrezioni nasali o il cotone del tempone usato per il prelievo. Gli acidi grassi sono assorbiti dall'amido, presente nell'infuso di patate, il glicerolo fornisce il carbonio e il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico del terreno. L'aggiunta del 15% di sangue di montone fornisce fattori di crescita complessi, necessari per lo sviluppo.

BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood è basato sulla formula di Mishulow et al., che ne hanno dimostrato l'efficacia in sostituzione dell'agar di Bordet-Gengou.³ Il terreno è stato ulteriormente sviluppato e denominato agar carbone di Regan-Lowe.⁴ Estratto di carne bovina e peptone di gelatina forniscono i nutrienti per questo terreno. Amido e carbone agiscono come sostanze assorbenti di acidi grassi tossici, radicali e perossidi, sostituendo l'infuso di patate dell'agar di Bordet-Gengou. La niacina è una vitamina che stimola la crescita. Il sangue di cavallo fornisce fattori di crescita complessi e riduce ulteriormente l'effetto tossico dei perossidi.

La cefalexina viene aggiunta a **BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood** e **BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood** come agente selettivo per sopprimere in parte la flora normale del tratto respiratorio.^{5,6}

REAGENTI

Formule* per litro di acqua purificata

BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood		BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood	
Infuso di patate (solidi)	4,5 g	Estratto di carne bovina	10,0 g
Digerito pancreatico di caseina	5,0	Digerito pancreatico di gelatina	10,0
Digerito peptico di tessuto animale	5,0	Amido solubile	10,0
Cloruro di sodio	5,5	Carbone attivo	4,0
Agar	20,0	Cloruro di sodio	5,0
Cefalexina	0,04	Niacina (acido nicotinico)	0,01
Glicerolo	10,0 mL	Cefalexina	0,04
Sangue defibrinato di montone	15%	Sangue defibrinato di cavallo	7%
pH 7,2 ± 0,2		Agar	12,0 g
		pH 7,4 ± 0,2	

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

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 il congelamento e il surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione consigliati.

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 aerobicamente in camera di umidificazione a 35 – 37 °C per 5 – 7 giorni. Non incubare in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica.

Ceppi	BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood	BD Bordetella Agar + Charcoal + 7 % Horse Blood
<i>Bordetella pertussis</i> ATCC 9797	Crescita da discreta a eccellente	Crescita da buona a eccellente
<i>Bordetella parapertussis</i> ATCC 15311	Crescita da discreta a eccellente	Crescita da buona a eccellente
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Inibizione da parziale a completa	Inibizione da parziale a completa
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Inibizione da parziale a completa	Inibizione da parziale a completa
Non inoculate	Rosso scuro con sfumature brunastre, opache	Nero brillante con sfumature rossastre, opache

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood o **BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood**, entrambi su piastre impilate Stacker da 90 mm. Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

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

Prelievo dei campioni e tipi di campioni

Per la diagnosi della pertosse non si ricorre più al metodo dell'espettorato su piastra.⁷ Prelevare entro la prima settimana di tosse convulsa le secrezioni del nasofaringe posteriore, il liquido di lavaggio nasofaringeo o un tampone nasofaringeo (alginato di calcio su filo metallico).³ Non utilizzare tamponi di cotone. Si consiglia di prelevare le secrezioni mediante aspirazione sotto vuoto. Non usare campioni prelevati dalla faringe. Per il trasporto, sono stati descritti terreni speciali a base di carbone. I campioni devono essere inviati in laboratorio quanto prima, anche se si usano terreni di trasporto. Tempi di trasporto superiori a 24 h riducono drasticamente la vitalità della *Bordetella*. Per informazioni dettagliate, consultare la bibliografia.^{6,8,9}

Procedura del test

Inoculare le piastre appena i campioni arrivano in laboratorio ed eseguire gli strisci per diluire. Incubare le piastre in camera di umidificazione ad aria ambiente (ad es., in contenitore **BD**

GasPak con dell'acqua in un beaker) per 7 – 10 giorni, controllando giornalmente con lenti di ingrandimento. Non incubare in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica perché il gas può sopprimere il microrganismo. La temperatura ottimale per l'incubazione è 34 – 36 °C. Temperature più elevate potrebbero ridurre la crescita di *Bordetella*.⁶

Risultati

Dopo un adeguato periodo di incubazione, le colonie di *B. pertussis* su **BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood** e **BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood** appaiono piccole, bianche, convesse e brillanti, simili a perle divise in due. Le colonie di *B. pertussis* e *B. parapertussis* su **BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood** possono essere circondate da debole beta-emolisi.

PERFORMANCE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood e **BD Bordetella Agar with Charcoal and 7% Horse Blood** sono terreni selettivi idonei per l'isolamento di *Bordetella* spp., incluse *B. pertussis* e *B. parapertussis*.^{6,9} Gli studi più recenti consigliano l'uso di terreni a base di carbone.^{6,10,11}

La cefalexina viene aggiunta a questi terreni per inibire numerosi batteri Gram-positivi e alcuni Gram-negativi presenti nella normale flora della faringe, senza per questo inibire tutti i microrganismi.^{5,6}

Su questi terreni può svilupparsi *Bordetella bronchiseptica*, un patogeno opportunisto che può causare infezioni respiratorie.¹²

Sono necessari ulteriori test per confermare l'identificazione di *Bordetella pertussis* and *B. parapertussis*. Per confermare la natura degli isolati ottenuti su questi terreni, si può ricorrere al DFA test (basato su anticorpi fluorescenti specifici), che può essere usato assieme alla coltura per l'identificazione diretta degli agenti dai campioni.^{6,8,9}

BIBLIOGRAFIA

1. Bordet, J., and D. Gengou. 1906. Le microbe de la coqueluche. Ann. Inst. Pasteur 20:731.
2. Kendrick, P. L., E. Eldering, and W. L. Bradford. 1970. Whooping cough. In H. L. Bodily, E. L. Updyke, and J. O. Mason (ed.), Diagnostic procedures for bacterial, mycotic and parasitic infections, 5th ed. American Public Health Association, New York, NY.
3. Mishulow, L., L. S. Sharpe, and L. L. Cohen. 1953. Beef-heart charcoal agar for the preparation of pertussis vaccines. Am. J. Public Health, 43:1466.
4. Regan, J., and F. Lowe. 1977. Enrichment medium for the isolation of *Bordetella*. J. Clin. Microbiol. 6: 303-309.
5. MacFaddin, J. F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 86-92. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
6. Loeffelholz, M.J. 2003. *Bordetella*. 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.
7. Chievitz, J., and A. H. Meyer. 1916. Recherches sur la coqueluche. Ann. Inst. Pasteur 30:503
8. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
9. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Hoppe, J.E., and R. Vogl. 1986. Comparison of three media for culture of *Bordetella pertussis*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 5: 361-363.
11. Hoppe, J. E. 1988. Methods for isolation of *Bordetella pertussis* from patients with whooping cough. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 7: 616-620.
12. Woolfrey, B. F., and J. A. Moody. 1991. Human infections associated with *Bordetella bronchiseptica*. Clin. Microbiol. Rev. 4: 243-255.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Bordet Gengou Agar with 15% Sheep Blood

N. di cat. 254400

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

BD Bordetella Agar with Charcoal and 7 % Horse Blood

N. di cat. 256054

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, GasPak and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company