



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

### USO PREVISTO

**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)** [agar MacConkey II / agar Columbia CNA con 5% di sangue di montone (piastra doppia)] è usato per l'isolamento selettivo di batteri Gram-negativi e Gram-positivi da campioni clinici.

### PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

L'agar MacConkey è stato uno dei primi preparati (allestito nel 1900 da MacConkey) per l'isolamento, la coltura e l'identificazione di *Enterobacteriaceae* e alcuni batteri non fermentanti.<sup>1,2</sup> In seguito, il terreno è stato modificato a più riprese.<sup>3,4</sup>

L'agar MacConkey è scarsamente selettivo in quanto la concentrazione di sali biliari, che inibiscono i microrganismi Gram-positivi, è inferiore rispetto ad altri terreni per piastratura di enterobatteri. Il terreno è ideale per campioni clinici che presumibilmente contengono microflora mista, ad es. urine, campioni respiratori, ferite, ecc., in quanto consente di ripartire enterobatteri e altri Gram-negativi in bacilli fermentanti e non fermentanti il lattosio.<sup>4-6</sup> L'agar MacConkey viene utilizzato anche per le analisi microbiologiche degli alimenti.<sup>7</sup>

L'agar MacConkey II è stato allestito nel 1987 per inibire più efficacemente la sciamatura di *Proteus* spp., differenziare con certezza i fermentanti dai non fermentanti il lattosio e stimolare maggiormente la crescita di enterobatteri. Nell'agar MacConkey II, i nutrienti sono forniti dai peptoni. Il cristalvioletto viene aggiunto per inibire i batteri Gram-positivi, specialmente enterococchi e stafilococchi. Per differenziare gli enterobatteri, si combina il lattosio con l'indicatore di pH rosso neutro, formando colonie incolori o tra rosa e rosso, a seconda della capacità dell'isolato di fermentare il carboidrato.<sup>4</sup>

Ellner et al. nel 1966 hanno elaborato un preparato a base di agar sangue, che è stato denominato agar Columbia.<sup>8</sup> Questo terreno, caratterizzato da colonie più estese e crescita più rigogliosa rispetto ad altre basi agar sangue, è utilizzato per terreni contenenti sangue e preparati selettivi. Ellner et al. hanno dimostrato che un terreno contenente 10 mg di colistina e 15 mg di acido nalidixico per litro su una base di agar Columbia, arricchito con 5% di sangue di montone, alimenta la crescita di stafilococchi, streptococchi emolitici ed enterococchi, mentre inibisce la crescita di *Proteus*, *Klebsiella* e *Pseudomonas* spp.<sup>8,9</sup>

L'agar Columbia è una base altamente nutritiva per terreni di coltura. L'aggiunta degli agenti antimicrobici colistina e acido nalidixico rende il terreno selettivo per i microrganismi Gram-positivi, specialmente streptococchi e stafilococchi. Il sangue di montone consente di rilevare le reazioni emolitiche.<sup>4,5,9</sup>

La combinazione di questi due terreni su piastra doppia è usata per l'isolamento selettivo di batteri Gram-negativi e Gram-positivi da campioni clinici.

## REAGENTI

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

Formule\* per litro di acqua purificata

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar 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 granturco	1,0
Sali biliari	1,5	Cloruro di sodio	5,0
Cloruro di sodio	5,0	Colistina	0,01
Rosso neutro	0,03	Acido nalidixico	0,015
Cristalvioletto	0,001	Agar	15,0
Agar	13,5	Sangue defibrinato di montone	5 %
pH 7,1 ± 0,1		pH 7,3 ± 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 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. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare aerobicamente a 35 – 37 °C per 24 h.

Ceppi	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar 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 da parziale a completa, sciamatura inibita
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Crescita da buona a eccellente, colonie beige	Non testato
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Crescita da buona a eccellente, colonie beige	Non testato
<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 inoculate	Rosa chiaro, lievemente opalescenti	Rosse (color sangue)

## PROCEDURA

### Materiali forniti

**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar 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 campioni clinici (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).<sup>10</sup>

### 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 la piastra doppia con i campioni, passare il tampone su una piccola area di agar Columbia CNA con 5% di sangue di montone e successivamente su una piccola superficie di agar MacConkey II. Strisciare per isolare le colonie dalle aree inoculate, usando un'ansa nuova per ogni terreno. Incubare in aria ambiente a  $35 \pm 2$  °C per 24 – 48 h. È sconsigliabile incubare l'agar MacConkey in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica.<sup>11</sup>

Poiché alcuni microrganismi Gram-positivi e Gram-negativi sono inibiti su entrambi i terreni, è indispensabile aggiungere un terreno a base di agar sangue non selettivo, come **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, incubato a  $35 \pm 2$  °C per 24 – 48 h in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica.

### Risultati

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

Organismi	Agar MacConkey II	Agar Columbia CNA con 5% di sangue di montone
<i>E. coli</i>	Da rosa a rosa-rosso (eventualmente circondate da 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 da parziale a completa
<i>Shigella</i>	Incolori	Inibizione da parziale a completa
<i>Pseudomonas</i>	Irregolari, da incolori a rosa	Inibizione da parziale a completa
Stafilococchi	Inibizione da parziale a completa	Crescita, colonie da piccole a medie, da bianche a gialle, con o senza beta-emolisi
Streptococchi	Inibizione completa	Crescita, colonie da minuscole a medie, con o senza alfa e beta-emolisi
Enterococchi	Inibizione da parziale a completa	Crescita, colonie 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 ulteriori informazioni e valutazioni sulla crescita, consultare la bibliografia.<sup>5,9</sup>

Per completare l'identificazione degli isolati, sono necessari ulteriori test biochimici e, all'occorrenza, immunologici usando colture pure.<sup>5,6,9</sup>

## PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

L'agar **MacConkey II** è uno dei terreni normalmente utilizzati per la piastratura primaria di campioni clinici e altri materiali non clinici. Su questo terreno crescono tutti i microrganismi della famiglia *Enterobacteriaceae* e molteplici altri bacilli Gram-negativi, quali *Pseudomonas* e generi

correlati.<sup>5-7,9</sup> Su questo terreno non crescono bacilli non fermentanti e altri Gram-negativi sensibili agli ingredienti selettivi. Consultare i rispettivi capitoli della bibliografia prima di usare il terreno per microrganismi specifici.<sup>5,9,10</sup>

Alcuni *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa* vengono inibiti su agar MacConkey quando sono incubati in atmosfera arricchita con CO<sub>2</sub>.<sup>11</sup>

L'agar Columbia CNA con 5% di sangue di montone è un terreno utilizzato normalmente per l'isolamento e la coltura di numerosi microrganismi Gram-positivi a crescita aerobica, ad es. streptococchi, stafilococchi, corineformi, *Listeria* spp. e altri.<sup>5,9</sup>

Su questo terreno possono crescere batteri Gram-negativi in grado di resistere agli ingredienti selettivi.

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

Benché siano Gram-positivi, i batteri aerobi sporigeni, tipo *Bacillus* spp., possono essere inibiti su agar Columbia CNA con 5% di sangue di montone.

È da notare che questo terreno ha una concentrazione relativamente elevata di carboidrati e quindi gli streptococchi beta-emolitici possono produrre una reazione emolitica verdastra che potrebbe essere scambiata per alfa-emolisi.

Nonostante l'ampia varietà di batteri Gram-negativi e Gram-positivi che crescono su **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)**, è necessario includere un terreno non selettivo per l'isolamento primario di tutti i patogeni eventualmente presenti nei campioni.<sup>10</sup> **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** è un terreno non selettivo usato spesso per la piastratura primaria che può rispondere a tale esigenza. Per l'isolamento di microrganismi esigenti, ad es. se si sospetta la presenza di *Neisseria* o *Haemophilus*, inoculare con il campione una piastra di agar cioccolato, come **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)**.

Benché alcuni test diagnostici possano essere eseguiti direttamente sui terreni, per completare l'identificazione degli isolati sono necessari test biochimici e, all'occorrenza, immunologici usando colture pure.

## BIBLIOGRAFIA

1. MacConkey, A.T. 1900. Note on a new medium for the growth and differentiation of the *Bacillus coli communis* and the *Bacillus typhi abdominalis*. The Lancet, Part II:20.
2. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg. 5:333-379.
3. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
5. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
6. Farmer, J.J., III. 2003. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. 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.
7. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup> edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.
8. 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.
9. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Thomson, 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.
11. Mazura-Reetz, G. T. Neblett, and J. M. Galperin. 1979. MacConkey Agar: CO<sub>2</sub> vs. ambient incubation. Abst. Ann. Mtg. American Society for Microbiology. C179.

## CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

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

N. di cat. 254447

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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company