

BD Cepacia Medium[■] BD OFPBL Agar

USO PREVISTO

BD Cepacia Medium (terreno per *cepacia*) e **BD OFPBL Agar** (agar Ossidazione/Fermentazione-Polimixina-Bacitracina-Lattosio) sono terreni differenziali selettivi per l'isolamento di *Burkholderia cepacia* da campioni clinici.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Burkholderia (in precedenza *Pseudomonas*) *cepacia* è un noto agente patogeno responsabile di infezioni nosocomiali dovute a contaminazione di apparecchiature, disinfettanti e farmaci. Le infezioni possono interessare il circolo ematico, il tratto urinario e respiratorio e altri distretti.¹ Il microrganismo è inoltre un importante agente patogeno della fibrosi cistica (FC), denominata anche mucoviscidosi,¹⁻³ e della malattia granulomatosa cronica.⁴ L'isolamento del microrganismo su terreni convenzionali, come agar sangue o MacConkey, risulta a volte difficile per la crescita eccessiva di altri batteri, come *Staphylococcus* o *Pseudomonas aeruginosa*, che ne mascherano la presenza.^{1,2,5}

BD OFPBL (Ossidazione/Fermentazione-Polimixina-Bacitracina-Lattosio) **Agar** viene utilizzato per l'isolamento di *B. cepacia* ed è lievemente meno selettivo di **BD Cepacia Medium**.^{1,6}

BD OFPBL Agar utilizza come base il terreno O/F (Ossidazione/Fermentazione). Quando il lattosio viene fermentato con conseguente produzione di acidi, l'indicatore di pH blu bromotimolo vira da blu a giallo. Il fosfato consente di equilibrare il pH, mentre la bacitracina e la polimixina B agiscono da inibitori degli altri batteri presenti.

BD Cepacia Medium viene utilizzato anche per l'isolamento di *B. cepacia*. Peptoni e solfato di ammonio forniscono l'azoto, il piruvato è la fonte di carbonio e il rosso fenolo è utilizzato come indicatore del pH. I processi metabolici del piruvato portano a un accumulo di ioni sodio con aumento del pH. Ciò determina il viraggio del rosso fenolo da giallo-arancione a rosa o rosso intorno alle colonie di *B. cepacia* e rosa intenso nelle aree di maggiore crescita. Sali biliari, cristalvioletto, ticarcillina e polimixina B sono gli agenti inibitori che sopprimono la flora normale e gli altri patogeni. I fosfati vengono aggiunti per stabilizzare il pH, mentre magnesio e ferro sono fattori di crescita per molti non-fermentanti precedentemente inclusi nel genere *Pseudomonas*. Entrambi i terreni sono consigliati per l'isolamento di *B. cepacia* da campioni clinici.^{1,7,8}

REAGENTI

Formule* per litro di acqua purificata

BD Cepacia Medium		BD OFPBL Agar	
Peptoni	8,0 g	Digerito pancreatico di caseina	2,0 g
Ammonio Solfato	1,0	Cloruro di sodio	5,0
Piruvato di sodio	5,0	Fosfato d'idrogeno dipotassico	0,3
Solfato di magnesio	0,2	Blu bromotimolo	0,03
Solfato ferroso di ammonio	0,01	Lattosio	10,0
Fosfato di idrogeno dipotassico	4,35	Agar	15,0 g
Fosfato di sodio dibasico	1,42	Polimixina B	300000 U
Rosso fenolo	0,02	Bacitracina	200 U
Sali biliari	0,5	pH 6,8 ± 0,2	
Agar	12,0		
Ticarcillina	0,1		
Polimixina B	300000 U		
Cristalvioletto	1,0 mg		
pH 6,4 ± 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 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 le piastre con i ceppi elencati di seguito. Incubare per 20 – 24 h in ambiente aerobico a 30 – 35 °C o a 35 – 37 °C.

Ceppi	BD Cepacia Medium	BD OFPBL Agar
<i>Burkholderia cepacia</i> ATCC 25416	Crescita da discreta a eccellente, colonie da lievemente giallastre a rosate, terreno da rosato a rosa-rosso	Crescita da buona a eccellente, colonie da trasparenti a gialle, terreno giallo
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibizione completa	Inibizione completa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Inibizione da parziale a completa	Inibizione completa
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ATCC 13637	Inibizione da parziale a completa	Inibizione da parziale a completa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inibizione da parziale a completa	Inibizione completa
Non inoculate	Da gialle ad arancioni	Verdi

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Cepacia Medium o **BD OFPBL Agar**, entrambi su piastre impilate **Stacker**.
Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

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

Tipi di campioni

Questi terreni sono utilizzati per l'isolamento di campioni clinici del tratto respiratorio, urinario e di altri distretti (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**). I campioni prelevati da pazienti affetti da CF comprendono liquido di lavaggio broncoalveolare (preferibilmente), sputo, aspirato nasolaringeo e tamponi orofaringei.

Procedura del test

Inoculare uno dei terreni con il campione non appena viene consegnato in laboratorio. Strisciare per isolare le colonie. Per isolare tutti i patogeni coinvolti nell'infezione, inoculare con il campione **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** e **BD MacConkey II Agar**, oltre a **BD Cepacia Medium** o **BD OFPBL Agar**. Incubare **BD Cepacia Medium** o **BD OFPBL Agar** in ambiente aerobico a 30 – 35 °C o a 35 – 37 °C per 18 – 24 h o più a lungo, se necessario. Alcuni ceppi di *B. cepacia* si sviluppano completamente solo a temperature inferiori o dopo 72 h di incubazione. Incubare gli altri terreni secondo le procedure appropriate.

Risultati

Dopo l'incubazione, le tipiche colonie di *B. cepacia* su **BD Cepacia Medium** assumono un colore tra giallastro chiaro e rosato, e sono circondate da zone tra rosato a rosa-rosso. Su **BD OFPBL Agar**, le colonie di *B. cepacia* appaiono da trasparenti a gialle e sono circondate da zone gialle.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD Cepacia Medium e **BD OFPBL Agar** sono consigliati per l'isolamento di *Burkholderia cepacia* da campioni clinici che potrebbero contenere la normale flora contaminante, come (a titolo di esempio) i campioni prelevati dal tratto respiratorio e urinario.^{1,7,8}

Gilligan et al., che hanno sviluppato l'agar per *Pseudomonas Cepacia* come terreno differenziale selettivo, hanno documentato l'isolamento su questo terreno di *B. cepacia* da secrezioni respiratorie di 35 soggetti affetti da FC, mentre con l'agar MacConkey si sono ottenuti solo 21 isolati.⁵

A volte, su questi terreni possono crescere altri batteri resistenti agli agenti selettivi.

Burkholderia gladioli, presente nei campioni respiratori di pazienti affetti da FC, cresce su agar OFPBL e può apparire simile a *B. cepacia*.⁹

Sono necessari ulteriori test, come la colorazione di Gram e l'identificazione biochimica completa, per confermare la presenza di *B. cepacia*.¹

BIBLIOGRAFIA

1. Gilligan, P.H., G. Lum, P.A.R. Vandamme, and S. Whittier. 2003. *Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Brevundimonas, Comamonas, Delftia, Pandoraea, and Acidovorax*. 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.
2. Gilligan, P.H. 1991. Microbiology of airway disease in patients with cystic fibrosis. Clin. Microbiol. Rev. 4: 35-51.
3. Gilligan, P.H., and D.V. Schidlow. 1984. The role of *Pseudomonas cepacia* in pulmonary disease of cystic fibrosis patients. Clin. Microbiol. Newsl. 6: 42-44.
4. O'Neil, K.M., et al. 1986. *Pseudomonas cepacia*: an emerging pathogen in chronic granulomatous disease. J. Pediatr. 108: 940-942.
5. Gilligan, P.H., et al. 1985. Isolation medium for the recovery of *Pseudomonas cepacia* from respiratory secretions of patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 25: 5-8.
6. Welch, D.F., et al. 1987. Selective and differential medium for recovery of *Pseudomonas cepacia* from the respiratory tracts of patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 25: 1730-1734.
7. Carson, L.A., et al. 1988. Comparative evaluation of selective media for isolation of *Pseudomonas cepacia* from cystic fibrosis patients and environmental sources. J. Clin. Microbiol. 26: 2096-2100.
8. Tablan, O.C., et al. 1987. Laboratory proficiency test results on use of selective media for isolating *Pseudomonas cepacia* from simulated sputum specimens of patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 25: 485-487.
9. Christenson, J.C., et al. 1989. Recovery of *Pseudomonas gladioli* from respiratory tract specimens of patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 27: 270-273.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Cepacia Medium

N. di cat. 256180 Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

BD OFPBL Agar

N. di cat. 254481 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 and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company