

## BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood

### USO PREVISTO

**BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** (agar Schaedler CNA con 5% di sangue di montone) è un terreno parzialmente selettivo per l'isolamento da campioni clinici di cocchi Gram-positivi anaerobi stretti e altri batteri Gram-positivi anaerobi.

### PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

L'agar Schaedler con sangue di montone è un terreno altamente nutritivo allestito specificamente per consentire la crescita di anaerobi obbligati, come lattobacilli, streptococchi, *Clostridium* e *Bacteroides*;<sup>1-3</sup> aggiungendo vitamina K1 ed emina, costituisce la base di numerosi terreni selettivi, incluso l'agar Schaedler KV con 5% di sangue di montone. Ellner et al. hanno dimostrato che un terreno contenente 10 mg di colistina e 15 mg di acido nalidixico per litro su agar Columbia arricchito con 5% di sangue di montone può alimentare la crescita di numerosi microrganismi Gram-positivi ma impedisce lo sviluppo di *Proteus*, *Klebsiella* e *Pseudomonas* spp.<sup>4</sup> Colistina e acido nalidixico (CNA) sono utilizzati in vari tipi di terreni per inibire i batteri Gram-negativi. Se è incubato in anaerobiosi, **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** consente l'isolamento selettivo di cocchi Gram-positivi, in particolare *Peptostreptococcus* e *Peptococcus*.<sup>3,5</sup> Sul terreno crescono anche altri anaerobi Gram-positivi, ad es., *Clostridium*, *Eggerthella lenta* (*Eubacterium lentum*), *Mobiluncus* e (benché siano Gram-negativi) numerose specie del gruppo *Bacteroides fragilis*, come *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* e *B. vulgatus*. Il terreno è particolarmente utile per i campioni che contengono flora mista. Nel **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** le sostanze nutritive sono fornite da tre peptoni, mentre l'energia viene ricavata dal glucosio. Il tampone tris viene aggiunto per evitare che il pH diminuisca eccessivamente durante la fermentazione del glucosio. L'estratto di lievito costituisce una ricca fonte di vitamine. L'emina e il sangue di montone forniscono l'eme necessario per numerosi anaerobi stretti e altre sostanze che promuovono la crescita. Colistina e acido nalidixico inibiscono gli anaerobi facoltativi Gram-negativi, in particolare la famiglia delle *Enterobacteriaceae*.

### REAGENTI

#### BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood

Formula\* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	8,2 g	Emina	0,01 g
Digerito peptico di tessuto animale	2,5	Vitamina K1	0,01
Digerito papaico di farina di soia	1,0	Tris (idrossimetil) aminometano	3,0
Glucosio	5,8	Colistina	0,01
Estratto di lievito	5,0	Acido nalidixico	0,01
Cloruro di sodio	1,7	Agar	13,5
Fosfato dipotassico	0,8	Sangue defibrinato di montone	5%
L-cistina	0,4		

pH 7,6 ± 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 a 35 – 37 °C per 48 – 72 ore in atmosfera anaerobica (ad es. con il sistema anaerobico **BD GasPak**).

Ceppi	Risultati della crescita
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Crescita da buona a eccellente
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Crescita da discreta a buona, con beta-emolisi (doppia zona)
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crescita da buona a eccellente
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inibizione completa
Non inoculate	Da rosso a rosso scuro (color sangue)

## PROCEDURA

### Materiali forniti

**BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** (piastre impilate **Stacker** da 90 mm).  
Microbiologicamente controllate.

### Materiali non forniti

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

### Tipi di campioni

Terreno selettivo per l'isolamento e la coltura di anaerobi stretti Gram-positivi da tutti i tipi di campioni clinici (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**), particolarmente utile per il trattamento di campioni contenenti flora mista di batteri facoltativi Gram-negativi.

Attenersi alle procedure approvate per il prelievo e il trasporto di campioni anaerobi.<sup>6-8</sup> Utilizzare terreni di trasporto adatti, ad es. **BD Port-A-Cul**.

### Procedura del test

Strisciare il campione appena consegnato in laboratorio su **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood**. La piastra strisciata è utilizzata prevalentemente per isolare le colture pure dai campioni contenenti flora mista. In alternativa, se il materiale in coltura proviene direttamente da un tampone, passare il tampone su una piccola area del bordo e strisciare dalla zona inoculata.

Per isolare tutti i patogeni eventualmente presenti, aggiungere un terreno anaerobico non selettivo, come **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**. Si consiglia di usare un terreno selettivo per anaerobi Gram-negativi, come **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood**. Incubare le piastre in anaerobiosi a 35 – 37 °C per almeno 48 h e fino a 7 giorni prima di considerarle negative. Un modo funzionale e semplice per creare le condizioni anaerobiche desiderate è il sistema anaerobico **BD GasPak**.

Indipendentemente dal sistema anaerobico usato, è importante aggiungere un indicatore di anaerobiosi, come l'indicatore anaerobico monouso **GasPak**.

Strisciare il campione su **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, come terreno di controllo per batteri a crescita aerobica, e incubare in aerobiosi con 5 – 10% di anidride carbonica.

## Risultati

Dopo l'incubazione, in molte piastre si nota un'area di crescita convergente. In effetti, lo striscio è una tecnica di "diluizione", per cui sulle aree strisciate si deposita un numero decrescente di microrganismi. Una o più di queste aree, quindi, dovrebbero mostrare alcune colonie isolate dei microrganismi contenuti nel campione. Inoltre, la crescita di ciascun organismo può essere misurata in maniera semi-quantitativa in base alla crescita nelle singole aree strisciate.

La crescita su **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood**, in assenza delle relative colonie su **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** incubato in aerobiosi, indica la presenza di batteri anaerobi. Se la crescita è presente su **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** ma assente su **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin-Agar with 5% Sheep Blood**, probabilmente gli isolati sono costituiti da anaerobi stretti Gram-positivi. Se su **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin-Agar with 5% Sheep Blood** compare lo stesso tipo di colonie, gli isolati potrebbero appartenere al gruppo *B. fragilis*. In entrambi i casi, il tipo di batteri isolati è rivelato dalla colorazione di Gram. La crescita su **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** ma non su entrambi i terreni anaerobi selettivi indica la presenza di anaerobi stretti sensibili agli inibitori dei terreni, come cocchi anaerobi Gram-negativi o altri batteri. Se sono presenti colture miste di anaerobi stretti e facoltativi, eseguire le subcolture dai terreni anaerobi sui terreni non selettivi, incubati in aerobiosi e anaerobiosi, per controllare se l'isolato è anaerobio stretto.

Per identificare i microrganismi isolati, sono necessarie ulteriori tecniche di differenziazione, fra cui la colorazione di Gram. Per ulteriori informazioni, incluse le procedure di identificazione, consultare i testi appropriati.<sup>6-11</sup>

## PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

**BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** è un terreno incubato in anaerobiosi per l'isolamento selettivo di numerosi microrganismi anaerobi Gram-positivi.<sup>3,5</sup> Il terreno consente lo sviluppo di *Peptostreptococcus*, *Peptococcus* e altri anaerobi Gram-positivi, ad es. *Clostridium*, *Eggerthella lenta* (*Eubacterium lentum*), *Mobiluncus* e altri anaerobi asporigeni Gram-positivi, ma inibisce la crescita di anaerobi facoltativi Gram-negativi, ad es. *Enterobacteriaceae*.

**BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood**, dopo incubazione anaerobica, non è totalmente selettivo per i microrganismi Gram-positivi anaerobi stretti. Sul terreno possono crescere microrganismi facoltativi Gram-positivi, come *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Listeria* o altri ancora.

La maggior parte delle specie del gruppo *Bacteroides fragilis* e alcune specie del genere *Prevotella*, ad es., *Prevotella bivia*, sono resistenti agli ingredienti selettivi e si sviluppano normalmente su questo terreno.

A volte, su questo terreno gli anaerobi Gram-positivi sensibili agli agenti selettivi, ad es. Alcune *Clostridium spp.*, possono essere parzialmente o completamente inibiti. Di conseguenza, i campioni devono essere strisciati su un terreno non selettivo.

## BIBLIOGRAFIA

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. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London
4. 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.
5. Atlas, R.M. 1993. Handbook of microbiological media. CRC Press, Boca Raton, USA.
6. 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.
7. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
8. 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.

9. Allen, S.D., J.A. Siders, and L.M. Marler. 1985. Isolation and examination of anaerobic bacteria, p. 413-433. 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.
10. Murray, P.R., and D.M. Citron. 1991. General processing of specimens for anaerobic bacteria, p. 488-504. 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.
11. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

## **CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ**

### **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood**

N. di cat. 254485 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, Stacker, Port-A-Cul and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company