

BD Modified CNA Agar • BD Modified CNA Agar with Crystal Violet

USO PREVISTO

BD Modified CNA Agar (agar CNA modificato) è un terreno selettivo per l'isolamento di batteri Gram-positivi da campioni clinici. **BD Modified CNA Agar with Crystal Violet** viene utilizzato per l'isolamento di streptococchi ed enterococchi e inibisce stafilococchi e batteri Gram-negativi.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Grazie alla sua composizione nutritiva, **Trypticase Soy Agar (TSA)** è divenuto un terreno ampiamente utilizzato, sia inalterato che come base per terreni contenenti sangue.¹

Trypticase Soy Agar II (TSA II) è una versione migliorata con fattori di crescita che, arricchita con 5% di sangue di montone, produce zone emolitiche più chiare rispetto a **Trypticase Soy Agar (TSA)**. Il terreno è ottimo per la crescita e l'emolisi di streptococchi beta-emolitici e altri organismi. Ellner e colleghi hanno documentato che un terreno contenente colistina e acido nalidixico con agar Columbia arricchito con 5% di sangue di montone facilita la crescita di stafilococchi, streptococchi emolitici ed enterococchi, mentre inibisce la crescita di *Proteus*, *Klebsiella* e *Pseudomonas* spp.² L'agar Columbia ha un contenuto relativamente alto di carboidrati e quindi gli streptococchi beta-emolitici possono produrre una reazione emolitica verdastra che può essere confusa con l'alfa-emolisi.

Trypticase Soy Agar II produce reazioni emolitiche più chiare ma colonie più piccole.

Trypticase Soy Agar II è il substrato per **BD Modified CNA Agar** e **BD Modified CNA Agar with Crystal Violet** che contiene le sostanze nutrienti e, integrato con colistina e acido nalidixico, assicura la selettività per i batteri Gram-positivi. Il sangue di montone e l'aggiunta di siero di vitello stimolano la crescita e permettono di rilevare le reazioni emolitiche.

Oltre a questi composti, **BD Modified CNA Agar with Crystal Violet** contiene cristalvioletto, che è un efficace inibitore degli stafilococchi. Il terreno, pertanto, viene usato per l'isolamento di streptococchi ed enterococchi che non vengono inibiti da questo colorante.

REAGENTI

Formule* per litro di acqua purificata

BD Modified CNA Agar

Digerito pancreatico di caseina	14,5 g
Digerito papaico di farina di soia	5,0
Cloruro di sodio	5,0
Agar	14,0
Fattori di crescita	1,5
Colistina	0,01
Acido nalidixico	0,01
Siero di vitello	50,0 mL
Sangue defibrinato di montone	5%

pH 7,3 ± 0,2

BD Modified CNA Agar with Crystal Violet contiene, oltre ai componenti elencati in alto, anche 2 mg di cristalvioletto per litro di terreno.

*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 cromatiche, essiccamento, fissurazioni 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 ± 2 °C per 18 – 24 h, preferibilmente in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica.

Ceppi	BD Modified CNA Agar	BD Modified CNA Agar with Crystal Violet
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Crescita da buona a eccellente, colonie grigio-verdastre, alfa-emolisi	Crescita da discreta a eccellente, colonie grigiastre-verdastre, alfa-emolisi
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Crescita da buona a eccellente, piccole colonie biancastre con beta-emolisi	Crescita da buona a eccellente, piccole colonie grigio-blu con beta-emolisi
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crescita da buona a eccellente, colonie medie, da bianche a gialle, con o senza beta-emolisi	Inibizione completa
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Crescita da buona a eccellente, colonie biancastre con zone grigiastre, senza emolisi	Crescita da discreta a eccellente, piccole colonie bluastre, non emolitiche
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inibizione da parziale a completa; nessuna sciamatura	Inibizione da parziale a completa; nessuna sciamatura
Non inoculate	Rosse (color sangue)	Rosse (color sangue), sfumatura bluastro

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Modified CNA Agar o **BD Modified CNA Agar with Crystal Violet**, entrambi su piastre impilate **Stacker** da 90 mm. Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

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

Tipi di campioni

BD Modified CNA Agar è un terreno selettivo per batteriologia aerobica adatto a numerosi batteri Gram-positivi, utilizzabile con ogni tipo di campione batteriologico.

BD Modified CNA Agar with Crystal Violet è un terreno selettivo per streptococchi ed enterococchi, in grado di inibire gli stafilococchi. Il terreno è usato prevalentemente per l'identificazione di streptococchi nei campioni prelevati da siti corporei dove tali organismi sono agenti infettivi primari, ad es. per l'isolamento di streptococchi di gruppo A (= *Streptococcus*

pyogenes) nei campioni del tratto respiratorio superiore, ma può essere utilizzato anche per rivelare la presenza di questi e altri streptococchi e degli enterococchi in altri campioni clinici. Per ulteriori informazioni su questi terreni, v. **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA.**

Procedura del test

Strisciare il campione appena pervenuto in laboratorio su **BD Modified CNA Agar** o **BD Modified CNA Agar with Crystal Violet**. La piastra strisciata è usata prevalentemente per isolare colture pure da campioni contenenti flora mista. In alternativa, se il materiale viene posto in coltura direttamente da un tampone, passare il tampone su una piccola area della superficie del bordo e strisciare da questa area inocolata.

Per individuare tutti i patogeni contenuti nel campione, aggiungere **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** e, a seconda del tipo di campione, anche altri terreni selettivi.^{3,4}

Poiché molti patogeni richiedono anidride carbonica per l'isolamento primario, incubare le piastre in atmosfera aerobica contenente circa 3 – 10% di CO₂. Incubare le piastre a 35 – 37 °C per 18 – 48 h o più a lungo, se necessario.

Risultati

Le colonie su **BD Modified CNA Agar** presentano la seguente morfologia:

Streptococchi (non gruppo D)	Piccole, da bianche a grigiastre Eventualmente emolitiche, a seconda delle specie
Enterococchi (gruppo D)	Medio-piccole, ma più grandi degli streptococchi di gruppo A, grigie
Stafilococchi	Medie, da bianche a grigie o da color crema a gialle Eventualmente emolitiche, a seconda delle specie
Micrococchi	Grandi, da bianche a grigie o da gialle a color arancio
Corinebatteri	Da piccole a grandi, da bianche a grigie o gialle
<i>Candida</i> spp.	Piccole e bianche
<i>Listeria monocytogenes</i>	Piccole, grigie con lieve beta-emolisi
Batteri Gram-negativi	Inibizione da parziale a completa

Stafilococchi e batteri Gram-negativi sono da parzialmente a completamente inibiti su **BD Modified CNA Agar with Crystal Violet**, mentre streptococchi ed enterococchi producono lo stesso tipo di crescita rispetto a **BD Modified CNA Agar**. Le colonie, tuttavia, tendono ad assumere una colorazione bluastro a causa dell'accumulo di cristallviolettto. Possono svilupparsi anche altri batteri Gram-positivi, a seconda della loro sensibilità agli inibitori. Per una valutazione più approfondita della crescita nelle piastre di isolamento primario, consultare la bibliografia.^{4,7}

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD Modified CNA Agar è usato per l'isolamento di batteri Gram-positivi, ad es. streptococchi, stafilococchi, corineformi, *Listeria* spp. e altri.²

BD Modified CNA Agar with Crystal Violet è usato per l'isolamento di streptococchi ed enterococchi. Questo terreno inibisce la crescita degli stafilococchi. Sul terreno possono crescere altri batteri Gram-positivi, a seconda delle specie e della sensibilità agli inibitori. Questi terreni inibiscono gran parte dei batteri Gram-negativi, tipo *Enterobacteriaceae*.

Risultati delle prestazioni

Attraverso un'indagine interna, sono stati analizzati i ceppi delle specie riportate in basso per valutarne la crescita e le reazioni emolitiche su questi terreni. **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** è stato utilizzato come controllo per la crescita. Le piastre sono state messe in incubazione a 35 – 37 °C per 20 h in atmosfera aerobica arricchita con CO₂. I risultati sono riportati nella tabella 1.

Limitazioni della procedura

Benché siano batteri Gram-positivi, gli sporigeni aerobi (*Bacillus* spp. e generi correlati) possono essere inibiti su questi terreni, che tuttavia non sono inibenti per i miceti.

Esistono numerose e differenti specie batteriche riconosciute come agenti infettivi. Pertanto, prima di usare abitualmente i terreni con microrganismi isolati raramente o descritti di recente, verificarne l'idoneità coltivando colture pure dell'organismo in questione.

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

Tabella 1: Risultati delle prestazioni

Specie	BD Modified CNA Agar	BD Modified CNA Agar with Crystal Violet	BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Crescita, beta-emolisi	Crescita, beta-emolisi	Crescita, beta-emolisi
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Crescita, beta-emolisi	Crescita, beta-emolisi	Crescita, beta-emolisi
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Crescita, alfa-emolisi	Crescita, alfa-emolisi	Crescita, alfa-emolisi
<i>Streptococcus sanguis</i>	Crescita, lieve alfa-emolisi	Crescita, lieve alfa-emolisi	Crescita, lieve alfa-emolisi
<i>Enterococcus faecalis</i>	Crescita	Crescita	Crescita
<i>Staphylococcus aureus</i>	Crescita, beta-emolisi	Nessuna crescita	Crescita, beta-emolisi
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Crescita	Nessuna crescita	Crescita
<i>Listeria monocytogenes</i>	Crescita, lieve beta-emolisi	Nessuna crescita	Crescita, lievissima beta-emolisi
<i>Escherichia coli</i>	Nessuna crescita	Nessuna crescita	Nessuna crescita
<i>Proteus mirabilis</i>	Crescita lievissima, sciamatura inibita	Crescita lievissima, sciamatura inibita	Crescita lievissima, sciamatura inibita
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Nessuna crescita	Nessuna crescita	Nessuna crescita

BIBLIOGRAFIA

- Vera, H.D., and D.A. Power. 1980. Culture media, p. 969. *In*: E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 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.
- Forbes, B.A. and P.A. Granato. 1995. Processing specimens for bacteria. *In*: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Baron, E. J, L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed., p. 415. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.
- 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.
- Ruoff, K. L., R.A. Whaley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*. *In*: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Teixeira, L.M., and R.R. Facklam. 2003. *Enterococcus*. *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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Modified CNA Agar with 5% Sheep Blood

N. di cat. 255082 Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

BD Modified CNA Agar with Crystal Violet and 5% Sheep Blood

N. di cat. 255086 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, Trypticase and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company