

BD CDC Anaerobe Agar + 5% Sheep Blood

USO PREVISTO

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood (agar CDC per anaerobi con 5% di sangue di montone) è un terreno non selettivo per l'isolamento e la coltura di anaerobi obbligati esigenti da campioni clinici e da materiali non clinici.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

L'agar CDC per anaerobi con 5% di sangue di montone è stato formulato da Dowell et al. dei Centers for Disease Control and Prevention come terreno arricchito, non selettivo, per l'isolamento e la coltura di un'ampia gamma di batteri anaerobi obbligati, in particolare quelli rilevati nei materiali clinici.¹⁻⁴ Il terreno contiene agar soia **Trypticase**, arricchito con agar aggiuntivo come base nutriente. Il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico. Il sangue di montone, l'emina, la cistina e la vitamina K1 forniscono i fattori di crescita necessari per alcuni anaerobi obbligati.^{1,5-7} Su questo terreno è stato dimostrato un miglioramento della crescita di *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium haemolyticum*, nonché di alcuni ceppi di *Actinomyces israelii* e *Bacteroides thetaiotaomicron*.² Inoltre, è stata riferita per questo terreno una variazione da omogenea a disomogenea delle colonie di *Bacteroides fragilis* meno marcata rispetto all'Agar sangue Schaedler.⁵

REAGENTI

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood

Formula* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	15,0 g
Digerito papaico di farina di soia	5,0
Cloruro di sodio	5,0
Agar	20,0
Estratto di lievito	5,0
Emina	0,005
Vitamina K1	0,01
L-cistina	0,4
Sangue defibrinato di montone	5%

pH 7,5 ± 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, alterazione di colore, essiccamento, fessurazioni 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 per 48 – 72 h in atmosfera anaerobica (ad es., sistema anaerobico **BD GasPak**).

Ceppi	Risultati della crescita
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crescita da buona a eccellente
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Crescita da buona a eccellente
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Crescita da buona a eccellente
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Crescita da buona a eccellente
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Crescita da discreta a buona
Non inoculate	Da rosso a rosso scuro (color sangue)

PROCEDURA

Materiali forniti

BD CDC Anaerobe 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 non selettivo per l'isolamento e la coltura di anaerobi stretti da tutti i tipi di campioni clinici (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).
Attenersi alle procedure approvate per la selezione, il prelievo e il trasporto dei campioni anaerobi.⁸⁻¹¹ Utilizzare terreni di trasporto adatti, ad es. **BD Port-A-Cul**.

Procedura del test

Strisciare il campione non appena perviene in laboratorio. La piastra di striscio è usata principalmente 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 del bordo e strisciare dalla zona inoculata per isolare le colonie.
Per l'isolamento di batteri anaerobi stretti si raccomanda di usare almeno due terreni per tutti i campioni. Una piastra, **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**, viene incubata anaerobicamente dopo l'inoculazione. La seconda piastra, **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, deve essere incubata aerobicamente con 5 – 10% di anidride carbonica per isolare i patogeni aerobi eventualmente presenti. Inoculare anche un terreno anaerobio selettivo per anaerobi stretti Gram-negativi, tipo **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood**. 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**. Per informazioni più dettagliate sul trattamento dei campioni, consultare la bibliografia.^{8-10,12,13}
Incubare le piastre in atmosfera idonea a 35 – 37 °C per almeno 48 h e fino a 7 giorni prima di considerarle negative.

Risultati

Dopo l'incubazione, la maggiore parte delle piastre mostra un'area di crescita confluyente. La procedura dello striscio è in effetti una tecnica di "diluizione", per cui sulle aree strisciate si deposita un numero decrescente di microrganismi. Di conseguenza, una o più di queste aree presenteranno colonie isolate degli organismi contenuti nel campione. Inoltre, la crescita di ciascun organismo può essere misurata in maniera semi-quantitativa in base alla crescita nelle singole aree strisciate.

Su **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** crescono tutti gli anaerobi stretti e facoltativi. La crescita su questo terreno anaerobico viene confrontata con quella su una piastra di **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** incubato aerobicamente, che contiene solo anaerobi facoltativi. Infine, la crescita su **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with**

5% Sheep Blood viene confrontata con la crescita su altri due terreni. 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 informazioni su altre procedure di differenziazione e identificazione, consultare i testi appropriati.^{8-10,14}

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Su **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**, uno dei terreni non selettivi normalmente usati per l'isolamento di anaerobi stretti, crescono *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, anaerobi stretti asporigeni (*Eubacterium*, secondo la denominazione precedente), *Mobiluncus*, *Actinomyces* e altri ancora.^{4,9,10,14-16}

I tassi di crescita degli anaerobi stretti variano considerevolmente: Mentre il *Bacteroides fragilis* cresce bene dopo 24 h, la crescita del *Mobiluncus* o dei ceppi di *Porphyromonas* necessita di 4 – 5 giorni. Inoltre, i ceppi di *Actinomyces* possono richiedere persino 1 – 3 settimane per formare colonie ben evidenti. Se le colture sono negative dopo 2 o 3 giorni di incubazione, incubare di nuovo anaerobicamente per altri 2 – 3 giorni. Se si sospetta la presenza di *Actinomyces*, inoculare alcune colture specifiche e controllare dopo 1, 2 e infine 3 settimane di incubazione.

Questo terreno non è selettivo specificamente per gli anaerobi stretti. Se vengono incubati anaerobicamente, anche gli organismi facoltativi crescono su questo terreno. Se si ottengono colture miste, pertanto, è essenziale confrontare i risultati della coltura anaerobica con i risultati di una piastra incubata aerobicamente.

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood non contiene glucosio o altri zuccheri. Di conseguenza, gli organismi fortemente saccarolitici, quali i lattobacilli e alcuni clostridi saccarolitici, crescono piuttosto lentamente su questo terreno. **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** è il terreno preferito per l'isolamento non selettivo di questi organismi.

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

BIBLIOGRAFIA

1. Dowell, V.R., Jr., G.L. Lombard, F.S. Thompson, and A.Y. Armfield. 1977. Media for isolation, characterization, and identification of obligately anaerobic bacteria. CDC laboratory manual. Center for Disease Control, Atlanta.
2. Dowell, V.R., Jr., and T.M. Hawkins. 1987. Laboratory methods in anaerobic bacteriology. CDC laboratory manual. HHS Publication No. (CDC) 87-8272. Centers for Disease Control, Atlanta.
3. Rodloff, A.C., P.C. Appelbaum, and R.J. Zabransky. 1991. Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology. Coordinating ed., A.C. Rodloff. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Isenberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Starr, S.E., G.E. Killgore, and V.R. Dowell, Jr. 1971. Comparison of Schaedler agar and Trypticase soy- yeast extract agar for the cultivation of anaerobic bacteria. Appl. Microbiol. 22:655-658.
6. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. J. Bacteriol. 80:164-170.
7. Wilkins, T.D., S.L. Chalgren, F. Jimenez-Ulate, C.R. Drake, Jr., and J.L. Johnson. 1976. Inhibition of *Bacteroides fragilis* on blood agar plates and reversal of inhibition by added hemin. J. Clin. Microbiol. 3:359-363.
8. 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.
9. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.

10. 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.
11. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1995. Specimen Collection, transport, and storage. *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.
12. Murray, P.R., and D.M. Citron. 1991. General processing of specimens for anaerobic bacteria. *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.
13. 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.
14. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
15. Thomson Jr., 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.
16. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: 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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood

N. di cat. 256506

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, 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