



8808191JAA
2010/07
Italiano

Terreno BBL in piastra pronto per l'uso per la differenziazione di *Escherichia coli*

BBL MacConkey II Agar with MUG

USO PREVISTO

Il terreno BBL MacConkey II Agar with MUG è usato per l'identificazione presuntiva di *Escherichia coli*.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Trepeta ed Edberg¹ hanno modificato l'agar MacConkey incorporando MUG (4-metilumbelliferil- β -D-glucuronide). Il terreno così ottenuto ha loro consentito di identificare presuntivamente *E. coli* dal terreno in piastra primario, entro 5 min.

La formulazione di **BBL MacConkey II Agar** è stata concepita per migliorare l'inibizione delle specie *Proteus* sciamanti, ottenere una migliore differenziazione dei microrganismi fermentanti e non fermentanti il lattosio e per favorire una maggiore crescita dei patogeni enterici.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

La maggior parte dei ceppi (96 – 97%) di *E. coli* produce β -D-glucuronidasi,² enzima che idrolizza MUG per formare 4-metilumbelliferone, un composto che sviluppa fluorescenza alla luce UV a onda lunga (366 nm). L'aggiunta di MUG alla formulazione consente ai ceppi β -D-glucuronidasi-positivi di *E. coli* di sviluppare una fluorescenza blu-verde allorché esaminati alla luce UV.

MacConkey II Agar è un terreno selettivo e differenziale, seppure a moderata selettività, in quanto la concentrazione di sali biliari – che inibisce i microrganismi gram-positivi – è bassa rispetto a quella di altri terreni enterici in piastra. Il terreno include anche cristalvioletto per inibire la crescita dei batteri gram-positivi, soprattutto enterococchi e stafilococchi.

La differenziazione dei microrganismi enterici si ottiene mediante combinazione del lattosio con l'indicatore rosso neutro. Vengono prodotte colonie incolori o rosa-rosse, a seconda della capacità dell'isolato di fermentare il carboidrato.

REAGENTI

BBL MacConkey II Agar with MUG

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di gelatina	17,0	g
Digerito pancreatico di caseina	1,5	g
Digerito peptico di tessuto animale	1,5	g
Lattosio	10,0	g
Sali biliari	1,5	g
Cloruro di sodio	5,0	g
Rosso neutro	0,03	g
Cristalvioletto	0,001	g
Agar	13,5	g
MUG (4-metilumbelliferil- β -D-glucuronide) ..	0,1	g

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di performance.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Se si riscontra un'umidità eccessiva, capovolgere il fondo su un coperchio e lasciare asciugare all'aria per evitare la formazione di aderenze tra la parte superiore e inferiore della piastra durante l'incubazione.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".³⁻⁶ Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave le piastre preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Modalità di conservazione - Al ricevimento, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C. Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. Le piastre preparate, conservate nell'involucro originario a 2 – 8 °C sino al momento dell'uso, possono essere inoculate fino alla data di scadenza e incubate per i tempi di incubazione raccomandati. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno si porti a temperatura ambiente.

Deterioramento del prodotto - Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento, fessurazioni o altri segni di deterioramento.

RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Per informazioni dettagliate sulle procedure di raccolta e trattamento dei campioni, consultare la documentazione appropriata.⁷⁻⁹

PROCEDURA

Materiale fornito - BBL MacConkey II Agar with MUG

Materiali necessari ma non forniti - Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie per questa procedura.

Procedura del test - Adottare tecniche aseptiche. La superficie agar deve essere omogenea e non eccessivamente umida.

Strisciare il campione non appena perviene in laboratorio. La piastra di striscio è usata principalmente per isolare colture pure da campioni contenenti flora mista. Strisciare anche un terreno non selettivo per aumentare le probabilità di recupero quando la popolazione di microrganismi gram-negativi è scarsa e fornire un'indicazione degli altri microrganismi presenti nel campione.

In alternativa, se il materiale viene posto in coltura direttamente da un tampone, far rotolare quest'ultimo su una piccola area della superficie del bordo, quindi strisciare in allontanamento da questa area inoculata.

Incubare le piastre, al riparo dalla luce, a 35 ± 2 °C (con MacConkey II Agar non usare un'atmosfera arricchita di CO₂) o un'altra temperatura appropriata, per 18 – 24 h; se dopo 24 h il risultato è negativo, reincubare per altre 24 h.

Controllo di qualità a cura dell'utente

1. Verificare che le piastre non presentino segni di deterioramento come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Controllare le performance inoculando un campione rappresentativo di piastre con colture pure di microrganismi di controllo stabili che producono reazioni note e attese. Si consigliano i ceppi di test sottoelencati.

CEPPO PER TEST	RISULTATI ATTESI
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescita, colonie rosa – rosse, fluorescenza.
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Crescita, colonie incolori, inibizione dello sciamare, nessuna fluorescenza.
<i>Salmonella choleraesuis</i> ssp. <i>choleraesuis</i> sierotipo Typhimurium ATCC 14028	Crescita, colonie incolori, nessuna fluorescenza.
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inibizione (parziale - completa), nessuna fluorescenza

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità in uso nel laboratorio. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione NCCLS in merito.

RISULTATI

Dopo l'incubazione, il terreno è sottoposto a esame macroscopico per verificare le colonie tipiche.

Le colonie di batteri fermentanti il lattosio appaiono di colore rosa o rosa-rosso e possono essere circondate da una zona di precipitazione biliare, mentre le colonie non fermentanti il lattosio sono incolori. Esaminare il terreno a luce UV a onda lunga (366 nm). Le colonie β -D-glucuronidasi-positivo sviluppano una fluorescenza blu-verde, mentre quelle β -D-glucuronidasi-negative non sviluppano alcuna fluorescenza.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Non tutti i ceppi di *E. coli* fermentano il lattosio o producono β -D-glucuronidasi. Alcuni ceppi di *Salmonella* e *Shigella* producono β -D-glucuronidasi e sviluppano fluorescenza.¹⁰ È stato dimostrato che una piccola percentuale di *Yersinia* e streptococchi sviluppa fluorescenza.¹¹ Ai fini di un'identificazione definitiva, sono necessari altri test biochimici o sierologici.^{9,12,13}

Un solo terreno è raramente adatto a rilevare tutti i microrganismi potenzialmente significativi in un campione. Gli agenti in terreni selettivi possono inibire alcuni ceppi delle specie desiderate o consentire la crescita di una specie che erano destinati a inibire, soprattutto se la specie è presente in grandi quantità nel campione. Per ottenere maggiori informazioni e garantire il recupero ottimale di potenziali patogeni, i campioni messi in coltura su terreni selettivi devono pertanto essere messi in coltura anche su terreni non selettivi.

PERFORMANCE

In uno studio clinico condotto in un ospedale e in una facoltà di medicina, la MUG è stata incorporata nel terreno **BBL MacConkey II Agar** per rilevare la presenza di β -glucuronidasi. Tale incorporazione ha consentito di ridurre da 1 h a 5 min il tempo di identificazione di ceppi di *E. coli* e di migliorare la capacità di identificare questo microrganismo in campioni misti.¹

DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
221938	BBL MacConkey II Agar with MUG , confezione da 20 piastre

REFERENCES

1. Trepeta, R.W., and S.C. Edberg. 1984. Methylumbelliferyl- β -D-glucuronide- based medium for rapid isolation and identification of *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 19:172-174.
2. Killian, M., and P. Bulow. 1976. Rapid diagnosis of *Enterobacteriaceae*. I. Detection of bacterial glycosidases. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec.B 84:245-251.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
4. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol 17:53-80.
5. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
6. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
7. Isenberg, H.D., F.D. Schoenknecht, and A. von Graevenitz. 1979. Cumitech 9, Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating ed., S.J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1999. Specimen collection, transport, and storage, p. 33-63. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. Feng, P.C.S., and P.A. Hartman. 1982. Fluorogenic assays for immediate confirmation of *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol. 43:1320-1329.
11. Robison, B.J. 1984. Evaluation of a fluorogenic assay for detection of *Escherichia coli* in foods. Appl. Environ. Microbiol. 48:285-288.
12. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
13. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1999. Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

-  Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Uretici / Proizvođač / Производител / Аткарушы
-  Use by / Spotřebuje do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeikäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Pouzítě do / Usar antes de / Använd före / Исполняйте до / A se utiliza până la / Son kullanna tarihi / Upotrebiti do / Исползовать до / дейи пайдаланура / Upotrijebiti do / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) / JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) / ÁÁÁÁ-KK-PP / ÁÁÁÁ-KK (KK = kuu lõpp) / VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) / ÁÁÁÁ-MM-JJ / ÁÁÁÁ-MM (MM = fin du mois) / JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) / EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) / ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) / ÁÁÁÁ-MM-GG / ÁÁÁÁ-MM (MM = fine mese) / MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mêsio pabaiga) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = fim do mês) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiac) / áááá-mm-dd / áááá-mm (mm = fin del mes) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) / ГТТТ-ММ-ДД / ГТТТ-ММ (ММ = края на месеца) / ÁÁÁÁ-LL-ZZ / ÁÁÁÁ-LL (LL = sfârșitul lunii) / YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) / GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) / ГТТТ-ММ-ДД / ГТТТ-ММ (ММ = конец месяца) / ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы) / GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
- REF** Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalogszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog numerasi / Kataloški broj / Номер по каталогу / Каталог номери
- EC REP** Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatus esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизирани представител в EU / Reprezentant autorizat în Uniunea Europeană / Автура Төрлүлүгү Yetkilii Төмсүлсү / Овлашчени представник у Европској заједници / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Autorizuirani predstavnik u EU
- IVD** In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro / In vitro diagnostikos prietaisas / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicinska romčicka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostik Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики ин витро / Жасанды жагдайда жүргізітін медициналық диагностика аспабы / Medicinska romagala za In Vitro Dijagnostiku
-  Temperature limitation / Teplotni omezení / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturbereich / Οριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohrančenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning / Температурни ограничения / Limitare de temperatură / Sicaklik sinirlaması / Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу / Dozvoljena temperatura
- LOT** Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Număr lot (lotul) / Parti Kodu (Lot) / Kod serije / Код партии (лот) / Топтама коды / Lot (kod)
-  Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları'na bakurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайданалуу нускаулығымән танысын алыңыз / Koristi upute za upotrebu
-  Keep away from light / Nevystavujte světlu / Må ikke udsættes for lys / Weghouden van licht / Hoida eemal valgusest / Suojattava valolta / Conserver à l'abri de la lumière / Vor Licht schützen / Φυλάξτε το μακριά από φως / Fény nem érheti / Tenere al riparo dalla luce / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Må ikke utsettes for lys / Przechowywać z dala od źródeł światła / Manter ao abrigo da luz / Uchovávať mimo dosahu svetla / Mantener alejado de la luz / Får ej utsättas för ljus / Παετέ от светлина / A se feri de lumină / Işıktan uzak tutun / Držite dalje od svetlosti / Хранить в темноте / Қараңғыланған жерде ұста / Držati dalje od svetla

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds

EC REP Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare, Ireland