



## BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood

### USO PREVISTO

**BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** è un terreno generico altamente nutritivo utilizzato per l'isolamento e la coltura di microrganismi esigenti e non esigenti estratti da campioni clinici.

### PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Ellner et al.<sup>1</sup> nel 1966 hanno descritto un nuovo tipo di agar sangue denominato agar Columbia.

**BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** consente una crescita più estesa grazie all'abbinamento di due peptoni e all'estratto di lievito come fonte di complesso vitaminico B. L'amido di granturco viene incluso per assorbire i sottoprodotti tossici del campione e come fonte energetica per gli organismi che possiedono alfa-amilasi. Il sangue di montone permette di rilevare le reazioni emolitiche e fornisce il fattore X (eme) necessario per la crescita di numerose specie patogene.

Su questo terreno, le colonie sono tendenzialmente più estese e la crescita appare più rigogliosa rispetto ai terreni con altri agar sangue. Columbia Blood Agar è raccomandato come terreno per l'isolamento primario dagli standard MiQ e in altri manuali di diagnostica.<sup>2,3</sup> In molti paesi europei questo terreno per l'isolamento primario è il più utilizzato per i campioni clinici.

### REAGENTI

#### **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**

Formula\* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	12,0 g
Digerito peptico di tessuto animale	5,0
Estratto di lievito	3,0
Estratto di carne bovina	3,0
Amido di granturco	1,0
Cloruro di sodio	5,0
Agar	13,5
Sangue di montone defibrinato	5 %

pH 7,3 ± 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, 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 ulteriori informazioni v.

**ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare le piastre inoculate a  $35 \pm 2$  °C in atmosfera aerobica integrata con anidride carbonica. Esaminare le piastre dopo 18 – 24 h per valutare il livello di crescita, le dimensioni delle colonie e le reazioni emolitiche.

Ceppi	Risultati della crescita
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Crescita da buona a eccellente, beta emolisi da debole a buona
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Crescita da buona a eccellente, alfa emolisi
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crescita da buona a eccellente, può essere o non essere beta emolitica
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescita da buona a eccellente, può essere o non essere beta emolitica
Non inoculate	Rosso (color sangue)

## PROCEDURA

### Materiali forniti

**BD Columbia 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 occorrenti.

### Tipi di campioni

Terreno di isolamento universale utilizzabile per tutti i tipi di campioni clinici incubati in aerobiosi (v. anche **CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).

### Procedura del test

Strisciare il campione non appena viene consegnato in laboratorio. 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, rotolare il tampone su una piccola area del bordo e strisciare da questa zona inoculata per effettuare l'isolamento. Inserire anche terreni selettivi adatti alla rilevazione di patogeni specifici, ad es. **BD MacConkey II Agar** per l'isolamento di *Enterobacteriaceae*.

Poiché molti patogeni richiedono l'anidride carbonica per l'isolamento primario, incubare le piastre **BD Columbia Agar with 5 % Sheep Blood** in atmosfera aerobica contenente circa il 3 – 10% di CO<sub>2</sub>. Incubare le piastre a  $35 \pm 2$  °C per 18 – 72 h. Leggere i risultati dopo 18 – 24 h e incubare di nuovo, se necessario.

### 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 minore di microrganismi. Pertanto, una o più di queste aree dovrebbe mostrare colonie isolate degli organismi contenuti nel campione. Inoltre, la crescita di ciascun organismo può essere misurata in maniera semiquantitativa in base alla crescita di ciascuna delle aree strisciate.

Le specie che crescono su questo terreno sono molto numerose. Pertanto, è impossibile fornire informazioni esaustive sull'aspetto di tali organismi su questo terreno. Per informazioni sull'aspetto e gli ulteriori test di differenziazione degli organismi isolati, consultare le relative voci della bibliografia.<sup>2-7</sup>

La morfologia tipica delle colonie isolate più spesso sul **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** è la seguente:

Streptococchi (non gruppo D)	Piccole, da bianche a grigiastre. Beta o alfa emolisi
Enterococchi (gruppo D)	Piccole, ma più grandi degli streptococchi di gruppo A, grigiastre Alfa (raramente beta) emolisi
Stafilococchi	Grandi, da bianche a grigie o da color crema a gialle, con o senza emolisi
Corinebatteri	Da piccole a grandi, da bianche a grigie o gialle, con o senza emolisi
<i>Listeria monocytogenes</i>	Da piccole a medie, grigiastre, con debole beta emolisi
<i>Enterobacteriaceae</i>	Da medie a grandi, colonie grigie, con o senza emolisi
<i>Candida</i>	Piccole e bianche

### PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

**BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** è un terreno di isolamento primario su cui crescono molti microrganismi, quali *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* e altri bacilli Gram-negativi non fermentanti, streptococchi, enterococchi, stafilococchi, corineformi, le specie di *Candida* e molti altri ancora.<sup>2,5,6</sup>

Il terreno è privo del fattore V (nicotinamide adenina dinucleotide, NAD) in quanto il sangue di montone contiene NADasi che distrugge la NAD. Per questa ragione, l'*Haemophilus influenzae*, che richiede sia il fattore X che il fattore V, non cresce su questo terreno.

La *Neisseria gonorrhoeae* non cresce bene su questo terreno. Per il rilevamento usare invece **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)**.

Il terreno, inoltre, non è adatto all'isolamento e alla crescita di *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* e altri organismi con requisiti nutritivi altamente specifici.

Il numero e la tipologia delle specie batteriche che si comportano da agenti infettivi è molto ampio. Pertanto, prima di usare il terreno di routine con microrganismi isolati raramente o descritti di recente, l'utilizzatore deve verificarne l'idoneità coltivando colture pure dell'organismo in questione.

A causa del contenuto alquanto elevato di carboidrati (amido) del Columbia Agar Base, gli streptococchi beta-emolitici possono scatenare reazioni emolitiche alfa piuttosto che beta o manifestare deboli reazioni emolitiche su terreni basati su questo preparato.

Benché sia possibile eseguire alcuni test diagnostici direttamente su questo terreno, per un'identificazione completa è necessario effettuare test biochimici e, all'occorrenza, immunologici usando colture pure. Per ulteriori informazioni consultare le relative voci della bibliografia.<sup>3,5,6</sup>

### BIBLIOGRAFIA

1. 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.
2. MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, edited by Mauch, H., R. Lüttiken, and S. Gatermann for the Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Volumes 3, 6, and 7. Urban & Fischer, Munich, Germany.
3. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media. *In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology*, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. 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.
6. Baron, E. J, L. R. Peterson, and S. M. Tenover. 1994. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 9th ed., p. 415. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.

7. MacFaddin, J. F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 86-92. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

### **CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ**

#### **BD Columbia Agar with 5 % Sheep Blood**

N. di cat. 254005 Terreni su piastra pronti all'uso, CPU 20

N. di cat. 254071 Terreni su piastra pronti all'uso, CPU 120

### **ULTERIORI INFORMAZIONI**

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



#### **Becton Dickinson GmbH**

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

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD