



BD Columbia Agar With 5% Horse Blood

USO PREVISTO

BD Columbia Agar with 5% Horse 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.¹ nel 1966 documentarono l'allestimento di un nuovo preparato a base di agar sangue, denominato agar Columbia. L'agar Columbia con 5% di sangue di cavallo sostiene più efficacemente la crescita perché combina due peptoni e l'estratto di lievito come fonte delle vitamine del complesso B. Per assorbire i sottoprodotti tossici del campione viene aggiunto amido di granturco, che fornisce l'energia necessaria per gli organismi che contengono alfa-amilasi. Il sangue di cavallo permette di evidenziare le reazioni emolitiche e fornisce sia il fattore X (eme) che il fattore V (nicotinamide adenina dinucleotide, NAD) necessari per la crescita di numerose specie batteriche, ad es. *Haemophilus influenzae*, che richiedono entrambi i fattori X e V. L'agar sangue Columbia ha un contenuto relativamente elevato di carboidrati e quindi gli streptococchi beta-emolitici potrebbero produrre una reazione emolitica verdastra erroneamente interpretabile come alfa-emolisi. La reazione emolitica verdastra degli streptococchi, tuttavia, si osserva meno spesso su agar Columbia arricchito con sangue di cavallo e più di sovente sullo stesso terreno arricchito con sangue di montone.² Le reazioni beta-emolitiche dipendono dal tipo di sangue aggiunto: ad es. gli enterococchi emolizzano il sangue di montone solo in rarissimi casi ma provocano una evidente beta-emolisi sul sangue di cavallo. *Staphylococcus aureus* è generalmente beta-emolitico su sangue di montone, ma spesso risulta non-emolitico su sangue di cavallo.

Su questo terreno, le colonie tendono ad essere più estese e la crescita più rigogliosa rispetto ad altri terreni a base di agar sangue. L'agar sangue Columbia è consigliato come terreno di isolamento primario dagli standard MiQ.³ In molti paesi europei, questo terreno è il più utilizzato per l'isolamento primario dei campioni clinici.

REAGENTI

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

Formula* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	12,0 g
Digerito peptico di tessuto animale	5,0
Estratto di lievito	3,5
Estratto di carne bovina	3,0
Amido di granturco	1,0
Cloruro di sodio	5,0
Agar	13,5
Sangue defibrinato di cavallo	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, 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. **INFORMAZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare le piastre inoculate a 35 ± 2 °C in atmosfera aerobica arricchita 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, beta-emolisi
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Crescita, alfa-emolisi
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Crescita, beta-emolisi
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crescita, eventualmente beta-emolitica
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescita
Non inoculate	Rosse (color sangue)

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Columbia Agar with 5% Horse 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 di isolamento universale utilizzabile per tutti i tipi di campioni batteriologici incubati in aerobiosi (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).

Procedura del test

Strisciare il campione non appena perviene in laboratorio. 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 del bordo e strisciare dalla zona inoculata per isolare le colonie.

Usare anche terreni selettivi adatti ad isolare patogeni specifici, ad es. **BD MacConkey II Agar** per l'isolamento di *Enterobacteriaceae* e altri bacilli Gram-negativi.

Poiché molti patogeni richiedono l'anidride carbonica per l'isolamento primario, incubare le piastre di **BD Columbia Agar with 5 % Horse Blood** in atmosfera aerobica contenente circa 3 – 10% di CO₂. Incubare le piastre a 35 ± 2 °C per 18 – 72 h. Leggere i risultati dopo 18 – 24 h e incubare di nuovo, se necessario.

Risultati

Dopo il periodo di incubazione, gran 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. La crescita di ogni organismo, inoltre, può essere classificata in maniera semiquantitativa valutando la crescita nelle singole aree strisciate. Per l'aspetto degli organismi isolati e ulteriori test differenziali, consultare le relative voci della bibliografia.²⁻³

Gli organismi isolati più spesso sul **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** presentano colonie con la seguente morfologia:

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 Beta-emolisi
Stafilococchi	Grandi, da bianche a grigie o da color crema a gialle, con o senza emolisi
<i>Corynebacterium</i>	Da piccole a grandi, da bianche a grigie o gialle, con o senza emolisi
<i>Listeria monocytogenes</i>	Colonie medio-piccole, grigiastre, con lieve beta-emolisi
<i>Enterobacteriaceae</i>	Colonie medio-grandi, grigie, con o senza emolisi.
<i>Candida</i> spp.	Piccole e bianche

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Il terreno viene utilizzato per l'isolamento e la coltura di numerosi microrganismi a crescita aerobica, ad es. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* e altri bacilli Gram-negativi non fermentanti, streptococchi, stafilococchi, corineformi, *Candida* spp. e molti altri ancora.²⁻⁴

La reazione beta-emolitica degli streptococchi appare più chiara su agar Columbia con sangue di cavallo piuttosto che su agar Columbia con sangue di montone.²

Le proprietà emolitiche descritte dalla manualistica diagnostica in genere fanno riferimento al sangue di montone. Queste caratteristiche potrebbero risultare differenti sui terreni contenenti sangue di cavallo, come **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** (v. anche **PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA**).

Le colonie di *Haemophilus haemolyticus*, che appartiene alla normale flora faringea, sono beta-emolitiche su agar con sangue di cavallo o coniglio e devono essere differenziate dalle colonie di streptococchi beta-emolitici usando altri criteri. Per ovviare a questo inconveniente, è stato suggerito l'impiego di sangue di montone perché è privo di nucleotidi piridinici e non sostiene la crescita di *H. haemolyticus*.⁵

Neisseria gonorrhoeae si sviluppano con difficoltà su questo terreno. Per isolare questa specie, utilizzare invece agar cioccolato.

Il terreno, inoltre, non è adatto all'isolamento e alla crescita di *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* e altri organismi con esigenze nutritive altamente specifiche.

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.

Benché alcuni test diagnostici possano essere eseguiti direttamente sul terreno, per completare l'identificazione sono necessari test biochimici e, all'occorrenza, immunologici usando colture pure. Per ulteriori informazioni, consultare le relative voci della bibliografia.^{4,5}

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. 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. Tenen (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, edited by Mauch, H., R. Lüttken, and S. Gatermann for the Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Volumes 3, 6, and 7. Urban & Fischer, Munich, Germany.
4. 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.
5. 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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

N. di cat. 256006

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

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