

## BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

### USO PREVISTO

**BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** (agar *Brucella* con 5% di sangue di cavallo) viene usato per l'isolamento e la crescita di specie batteriche esigenti e non esigenti, fra cui *Brucella*, da campioni clinici e non clinici.

### PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

La brucellosi è una malattia zoonotica trasmessa dagli animali domestici. La trasmissione avviene normalmente attraverso il latte, i prodotti caseari, la carne e il contatto diretto con animali infetti.<sup>1-3</sup> L'agar *Brucella* è stato allestito per la coltura di *Brucella* spp. da campioni con valore diagnostico, come il sangue, da alimenti e altri materiali potenzialmente contaminati. L'agar *Brucella* è conforme alle specifiche APHA per il brodo Albimi, che viene utilizzato per l'isolamento di *Brucella* spp.<sup>4-7</sup> **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** è particolarmente utile per la coltura di tutti i microrganismi aerobi, microaerofili e anaerobi più esigenti, inclusi streptococchi, pneumococchi, *Listeria*, *Brucella*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* ed *Helicobacter pylori*.<sup>1,6-10</sup>

Il terreno favorisce la crescita di microrganismi esigenti grazie al contenuto in peptoni, destrosio, estratto di lievito e sangue. I peptoni forniscono azoto organico, l'estratto di lievito è ricco di vitamine B e il glucosio viene usato come fonte energetica. Il sangue di cavallo fornisce sia il fattore X che il fattore V, necessari per lo sviluppo di alcuni organismi, come l'*Haemophilus influenzae*.

È da notare che 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 nel sangue di montone, ma spesso risulta non emolitico nel sangue di cavallo. Streptococchi beta-emolitici ed *Haemophilus haemolyticus* possono essere differenziati eseguendo una colorazione di Gram su uno striscio ricavato da una colonia.

### REAGENTI

#### BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

Formula\* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	10,0 g
Digerito peptico di tessuto animale	10,0
Glucosio	1,0
Estratto di lievito	2,0
Cloruro di sodio	5,0
Bisolfito di sodio	0,1
Agar	15,0
Sangue defibrinato di cavallo	5%

pH 7,0 ± 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.

Le procedure di laboratorio per *Brucella* richiedono attrezzature e tecniche speciali per ridurre al minimo i rischi biologici.<sup>1,9</sup> Per il trattamento dei campioni e delle colture è necessario un livello di sicurezza biologica 3.

## 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 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 da buona a eccellente, beta-emolisi
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Crescita da buona a eccellente, alfa-emolisi
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crescita da buona a eccellente, con possibile beta-emolisi
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	Crescita da buona a eccellente, colonie trasparenti medio-piccole, non emolitiche
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Crescita da buona a eccellente, colonie grandi, lucenti e grigie
Non inoculate	Rosse (color sangue)

## PROCEDURA

### Materiali forniti

**BD Brucella 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

**BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** può essere utilizzato per tutti i tipi di campioni quando si sospetta un'infezione causata da organismi esigenti e a lenta crescita. Sangue e midollo osseo sono campioni ottimali per porre la diagnosi di brucellosi. Per il prelievo e il trasporto di tali campioni, consultare la bibliografia.<sup>1,8,9</sup> Contrassegnare chiaramente i campioni dei pazienti con sospetta brucellosi per limitare al minimo l'esposizione in laboratorio a tale agente. Non usare il terreno come base universale per l'isolamento primario (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).

### Procedura del test

Strisciare il campione non appena perviene in laboratorio. La piastra strisciata 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 della superficie del bordo e strisciare da questa area inoculata. Poiché molti patogeni richiedono l'anidride carbonica per l'isolamento primario, è necessario incubare le piastre in un'atmosfera contenente circa 5% di CO<sub>2</sub>.

Incubare le piastre a 35 ± 2 °C per 18 – 24 h in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica. Per l'isolamento di *Brucella*, può essere necessario incubare a 35 – 37 °C per 3 – 7 giorni o più a lungo. Consultare le relative voci della bibliografia.<sup>1,8</sup>

### Risultati

Dopo l'incubazione, la maggiore parte delle piastre mostra un'area di crescita confluyente. La procedura dello striscio è in realtà una tecnica di "diluizione", per cui sulle aree strisciate si deposita un numero decrescente di microrganismi. Di conseguenza, una o più di queste aree

presentano 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'isolamento e l'identificazione di *Brucella*, consultare la bibliografia.<sup>1,2,8</sup>

## PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

**BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** è una formula normalmente utilizzata per l'isolamento di batteri esigenti, streptococchi, pneumococchi, *Listeria*, *Brucella*, *Neisseria meningitidis* ed *Haemophilus influenzae*.<sup>1,2,6-8</sup> Questa formula, inoltre, è consigliata come terreno non selettivo per l'isolamento primario di *Helicobacter pylori*.<sup>10</sup> Non essendo selettivo, il terreno consente lo sviluppo di numerosi microrganismi esigenti e non esigenti. Per isolare determinati microrganismi da campioni abbondantemente contaminati, usare anche terreni selettivi adatti. Il terreno può essere usato anche come base per le subcolture derivate da emocolture, ad es. nei casi di sospetta brucellosi.<sup>1,3,9</sup>

Il terreno in genere non viene usato come terreno universale per l'isolamento primario, si utilizzano invece formule basate su agar Columbia o soia Trypticase, arricchite con sangue.<sup>2,6,8</sup> Benché il terreno possa essere utilizzato anche per gli anaerobi stretti, per questi ultimi si preferiscono i terreni arricchiti, come **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**.<sup>6</sup> Per identificare gli organismi isolati sul terreno sono necessarie ulteriori indagini di differenziazione e identificazione.<sup>1,8</sup>

## BIBLIOGRAFIA

1. Chu, M.C., and R.S. Weyant. 2003. *Francisella* and *Brucella*. 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.
2. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
3. Yagupsky, P. 1999. Detection of brucellae in blood cultures. J. Clin. Microbiol. 37: 3437-3442.
4. Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (ed.). 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of food, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
5. Hausler, W. J. (ed.). 1976. Standard methods for the examination of dairy products, 14th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. 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, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, vol. 1, p.110-114. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
8. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Seifert, H., et al. 1997. Sepsis – Blutkulturdiagnostik. In: MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 3. G. Fischer Verlag. Stuttgart, Germany.
10. Versalovic, J., and J.G. Fox. 2003. *Helicobacter*. 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.

## CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

### **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood**

N. di cat. 255027

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 and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.  
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

Chocolate and Brucella agar w/ 5% horse blood isolates Nutritionally variant streptococci. Steak and Stab Technique of Streptococci and Enterococcus . (6 points). 1) uses 5% sheep blood agar 2) the purpose is to diagnose streptococcal pharyngitis 3) the throat swab is rolled over 1/6th of the plate to deposit the specimen 4) using loop streak inoculum. 5) stab without sterilising parts of the plate that have not been streaked, this is to create an anaerobic environment 6) the growth in the subsurface is the most reliable of haemolytic rxns (Beta) showing SLO (oxygen liable) and SLS (oxygen st .. Colony Morphology Growth seen on Blood Agar (BA) and Chocolate Agar (CA). Non-hemolytic, non-pigmented small grey colonies; may require 48-72 h for discrete colonies to become evident CO<sub>2</sub> enhances growth Slow grower; punctate colonies (0.6  $\hat{1}$ /<sub>4</sub>m - 1.5  $\hat{1}$ /<sub>4</sub>m) in 48 h. Clear or white colonies on MacConkey (MAC) agar at 48 h. Brucellosis is a commonly acquired laboratory infection; all work on suspect Brucella spp. cultures should be performed at a minimum under BSL2 conditions with BSL3 practices. Growth on BA at 48 h. Growth on CA at 48 h. . Gram Stain Tiny, often faintly stained gram-negative Blood agar is an enriched, bacterial growth medium. Fastidious organisms, such as streptococci, do not grow well on ordinary growth media. Blood agar is a type of growth medium (trypticase soy agar enriched with 5% sheep blood) that encourages the growth of bacteria, such as streptococci, that otherwise wouldn't grow. Beta hemolysis in sheep blood agar. Blood contains inhibitors for certain bacteria such as Neisseria and Haemophilus genera and the blood agar must be heated to inactivate these inhibitors and to release essential growth factors (e.g., V factor). Heating of blood agar converts it