

BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood

NAMJENA

BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (Agar Columbia s 5% ovčje krvi) vrlo je hranjiva podloga za općenitu namjenu za izolaciju i uzgoj zahtjevnih i nezahtjevnih mikroorganizama iz kliničkih i nekliničkih uzoraka.

NAČELA I OBJAŠNJENJE POSTUPKA

Mikrobiološka metoda.

Godine 1966. Ellner i dr.¹ prijavili su razvoj nove formule krvnog agara koji je nazvan agar Columbia. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** posjeduje izvrsna svojstva koja potiču rast zahvaljujući kombinaciji dva peptona i ekstrakta kvasca koji opskrbljuje podlogu vitaminima B kompleksa. Kukuruzni škrob uključen je radi apsorpcije nusproizvoda sadržanih u uzorku te služi kao izvor energije za organizme koji sadrže alfa amilaze. Ovčja krv omogućuje otkrivanje hemolitičkih reakcija i opskrbljuje podlogu faktorom X (heme) potrebnim za rast mnogih patogenih vrsta.

Na ovoj podlozi kolonije su obično veće, a njihov rast je bogatiji nego na podlozi koja sadrži druge baze krvnog agara. Krvni agar Columbia preporučuje se kao podloga za primarnu izolaciju u standardima MiQ i u drugim dijagnostičkim priručnicima.^{2,3} U mnogim europskim zemljama ova podloga je postala najčešće korištena podloga za primarnu izolaciju iz kliničkih uzoraka.

REAGENSI

BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood

Formula* po litri pročišćene vode

Pankreatična digestija kazeina	12,0 g
Peptična digestija životinjskog tkiva	5,0
Ekstrakt kvasca	3,0
Goveđi ekstrakt	3,0
Kukuruzni škrob	1,0
Natrijev klorid	5,0
Agar	13,5
Ovčja krv, defibrirana	5%

pH 7,3 ± 0,2

*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

MJERE OPREZA

IVD . Samo za profesionalnu primjenu. 

Ne upotrebljavajte pločice ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikrobima, promjena boje, sušenje, pucanje ili ostali znakovi pogoršanja kvalitete.

Pogledajte dokument **OPĆE UPUTE ZA UPOTREBU** o postupcima aseptičnog rukovanja, biološkim opasnostima i odlaganju iskorištenog proizvoda.

ČUVANJE I ROK VALJANOSTI

Po primitku pohranite pločice na tamnom mjestu pri temperaturi od 2 – 8 °C u originalnom pakiranju do trenutka upotrebe. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Pločice se mogu inokulirati do datuma isteka valjanosti (pogledajte naljepnicu na pakiranju) te inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije.

Pločice iz otvorenih pakiranja po 10 pločica mogu se koristiti tjedan dana ako se čuvaju na čistom mjestu pri temperaturi od 2 – 8 °C.

KORISNIČKA KONTROLA KVALITETE

Inokulirajte reprezentativne uzorke sa sljedećim sojevima (za detalje pogledajte dokument **OPĆE UPUTE ZA UPOTREBU**). Inkubirajte inokulirane pločice na 35 ± 2 °C u aerobnoj atmosferi kojoj je dodan ugljični dioksid. Nakon 18 – 24 h na pločicama pregledajte stupanj rasta, veličinu kolonija i hemolitičke reakcije.

Sojevi	Rezultati rasta
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Dobar do odličan rast, slaba do dobra beta hemoliza
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Dobar do odličan rast, alfa hemoliza
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Dobar do odličan rast, može ili ne mora biti beta hemolitički
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Dobar do odličan rast, može ili ne mora biti beta hemolitički
Nije inokulirano	Crvena (boja krvi)

POSTUPAK

Priloženi materijal

BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (pločice **Stacker** od 90 mm). Mikrobiološki kontrolirano.

Materijal koji nije priložen

Podloge za dodatne kulture, reagensi i laboratorijska oprema kao što je opisano.

Vrste uzoraka

Ovo je univerzalna podloga za izolaciju i može se koristiti za sve vrste aerobno inkubiranih kliničkih uzoraka (pogledajte također **KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA POSTUPKA**).

Postupak ispitivanja

Razmažite uzorak odmah po primitku u laboratorij. Pločica s razmazom primarno se koristi za izolaciju čistih kultura iz uzoraka koji sadrže miješanu floru.

Drugi način je, u slučaju da se kultura nanosi na materijal izravno štapićem, da štapić protrljate po malom dijelu površine na rubu, a zatim razmažete radi izolacije iz tog inokuliranog dijela.

Mora se uključiti i odgovarajuća podloga za otkrivanje specifičnih patogena, npr. **BD**

MacConkey II Agar za izolaciju *Enterobacteriaceae*.

Budući da je za mnoge patogene potreban ugljični dioksid na primarnoj izolaciji, pločice **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** moraju se inkubirati u aerobnoj atmosferi koja sadrži približno 3 do 10% CO₂. Inkubirajte pločice na 35 ± 2 °C tijekom 18 do 72 h. Prvi put očitajte nakon 18 – 24 sata i po potrebi ponovno inkubirajte.

Rezultati

Nakon inkubacije na većini pločica bit će vidljivo područje s rastom koji se slijeva u jednu točku. Budući da je postupak razmazivanja u stvari tehnika „razrjeđivanja“, manji broj mikroorganizama nanosi se na područja razmaza. Zbog toga bi na jednom ili više ovih područja morale biti vidljive izolirane kolonije organizama iz uzorka. Nadalje, rast svakog organizma može se ocjenjivati polukvantitativno na osnovi rasta na svakom području razmaza.

Broj vrsta uzgojenih na ovoj podlozi vrlo je velik. Stoga ovdje ne mogu biti obuhvaćene sve informacije o izgledu organizama na ovoj podlozi. Pogledajte odgovarajuće reference za informacije o izgledu i daljnjim diferencijalnim ispitivanjima izoliranih organizama.²⁻⁷

Tipična morfologija kolonija često izoliranih organizama na **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** je kako slijedi:

Streptokoki (ne skupina D)	Mali, bijeli do sivkasti. Beta ili alfa hemoliza
Enterokoki (Skupina D)	Mali, ali veći od streptokoka skupine A, sivkasti. Alfa (rijetko beta) hemoliza
Stafilokoki	Veliki, bijeli do sivi ili krem do žuti, sa ili bez hemolize
Korinebakterije	Mali do veliki, bijeli do sivi ili žuti, sa ili bez hemolize
<i>Listeria monocytogenes</i>	Mali do srednje veličine, sivkasti sa slabom beta hemolizom.
<i>Enterobacteriaceae</i>	Srednje veličine do veliki, sive kolonije, sa ili bez hemolize
<i>Candida</i> spp.	Mali, bijeli

KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA POSTUPKA

BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood podloga je za primarnu izolaciju na kojoj će rasti većina mikroorganizama, kao što su *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* i drugi nefermentirajući gram negativni štapići, streptokoki, enterokoki, stafilokoki, korineoblici, vrste *Candida* i mnogi drugi.^{2,5,6}

Ovoj podlozi nedostaje faktor V (nikotinamid adenin dinukleotid, NAD) budući da ovčja krv sadrži NADaze koje uništavaju NAD. Zbog toga *Haemophilus influenzae* kojoj su potrebni i faktor X i faktor V neće rasti na ovoj podlozi.

Neisseria gonorrhoeae ne raste dobro na ovoj podlozi. Umjesto toga, za njihovu izolaciju treba koristiti **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalX)**.

Ova podloga također nije prikladna za izolaciju i rast bakterija *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* i drugih organizama s izuzetno posebnim hranjivim zahtjevima.

Broj i vrsta bakterijskih vrsta koje se pojavljuju kao infektivni agensi vrlo je velik. Stoga, prije nego što se podloga rutinski upotrebljava za rijetko izolirane ili novoopisane mikroorganizme, njezinu prikladnost korisnik mora prvo ispitati uzgojem čistih kultura na organizmu o kojemu se radi.

Zbog razmjerno velikog udjela ugljikohidrata (škrob) u agarnoj bazi Columbia, beta hemolitički streptokoki mogu prikazati alfa hemolitičke reakcije, a ne beta hemolitičke ili mogu prikazati slabu hemolitičku reakciju na podloge s ovom formulom.

Iako se određeni broj dijagnostičkih ispitivanja može napraviti direktno na podlozi, za potpunu identifikaciju preporučuje se biokemijska i, ako je tako navedeno, imunološka ispitivanja s čistom kulturom. Za dodatne informacije pogledajte odgovarajuće reference.^{3,5,6}

REFERENCE

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. Gattermann 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. Tenen (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. Tenen (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th 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. Finegold. 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.

PAKIRANJE/DOSTUPNOST

Agar BD Columbia s 5% ovčje krvi

Kat. br. 254005

Pločaste podloge spremne za upotrebu, cpu 20

Kat. br. 254071

Pločaste podloge spremne za upotrebu, cpu 120

DODATNE INFORMACIJE

Dodatne informacije zatražite od lokalnog predstavnika tvrtke BD.



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 property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD