

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (Biplate)

BRUKSOMRÅDE

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (Biplate [biskål]) brukes til isolering av bakterier vanligvis involvert i infeksjoner i urinveiene. Mens **CHROMagar Orientation Medium** er et ikke-selektivt medium for isolering, identifisering eller differensiering av urinveisspatogener, er Columbia CNA Agar et selektivt medium for isolering av Gram-positive bakterier.

PRINSIPPER FOR OG FORKLARING AV PROSEDYREN

Mikrobiologisk metode.

CHROMagar Orientation Medium: *Escherichia coli*, enterokokker og *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* og *Proteus-Morganella-Providencia* gruppene er de vanligste organismene som forårsaker urinveisinfeksjoner (= UVI). Seksti til 70 % av UVI forårsakes av *E. coli* i renkultur, eller sammen med enterokokker. *Staphylococcus saprophyticus* og *Streptococcus agalactiae* har blitt oppdaget, riktignok mindre ofte, i UVI hos kvinner.

Enkelte av organismene det gjelder, produserer enzymer, enten for metabolisering av laktose eller glukosider eller begge deler, mens andre ikke produserer noen av disse enzymene. For eksempel produserer *E. coli* enzymer for laktosemetabolisering, men er negativ for β -glukosidase. Andre medlemmer av familien *Enterobacteriaceae* er positive for β -glukosidase, men inneholder ikke de nødvendige enzymene for laktosefermentering, og andre kan inneholde begge enzymtypene, eller ingen av dem. Beta-glukosidaser finnes også i Gram-positive kokker, som *Enterococcus* spp. og *Streptococcus agalactiae*. Tryptofandeaminase (TDA) er et enzym som karakteristisk finnes i organismegruppen *Proteus-Morganella-Providencia*.

CHROMagar Orientation Medium gjør det mulig å identifisere *E. coli* og enterokokker og de fleste *Staphylococcus saprophyticus* og *S. simulans* direkte på isoleringsskålen. Videre er påvisning av gruppene *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (= KES) og *Proteus-Morganella-Providencia* (= PMP) mulig ved hjelp av fargen på kolonien og mediet.¹⁻³ Ettersom **CHROMagar Orientation Medium** er ikke-selektivt, vil andre UVI-patogener vokse, men biokjemiske tester er nødvendig for identifisering av dem.

CHROMagar Orientation Medium ble utviklet av A. Rambach og selges av BD Diagnostic Systems under en lisensavtale med CHROMagar, Paris, Frankrike.

I **CHROMagar Orientation Medium** tilføres næringsstoffene av spesielt utvalgte peptoner.

Kromogenblandingen består av syntetiske substrater (kromogener), som slipper ut ulike fargesammensetninger når de brytes ned av bestemte mikrobielle enzymer, og på denne måten sørger den for direkte differensiering av bestemte arter eller oppdagelse av bestemte organismegrupper med bare et minimum av konfirmerende tester.

Columbia CNA Agar: Ellner et al. rapporterte om utviklingen av en blodagarformulering som fikk navnet Columbia Agar.⁴ Dette mediet, der man oppnår større kolonier og fridigere vekst enn på sammenlignbare blodagarbaser, brukes til medier som inneholder blod, og til selektive formuleringer. Ellner et al. fant at et medium som inneholder 10 mg kolistin og 15 mg nalidiksinsyre per liter i en Columbia Agar-base beriket med 5 % saueblod, fremmer veksten av stafylokokker, hemolytiske streptokokker og enterokokker, mens veksten av *Proteus*-, *Klebsiella*- og *Pseudomonas*-arter hemmes.⁴

Columbia Agar er et svært næringsrikt medium. Tilsetning av de antimikrobielle stoffene kolistin og nalidiksinsyre gjør mediet selektivt for Gram-positive mikroorganismer, spesielt streptokokker og stafylokokker. Saueblod tilsettes mediet for å muliggjøre påvisning av hemolytiske reaksjoner.^{4,5}

REAGENSER

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (biskål)

Omtrentlig sammensetning* per liter renset vann

CHROMagar Orientation Medium	
Kromopeptoner	16,1 g
Kromogenblanding	1,3
Agar	15,0

pH 6,9 ± 0,2

Columbia CNA Agar			
Pankreatisk fordøyelse av kasein	12,0 g	Natriumklorid	5,0 g
Peptisk fordøyelse av dyrevev	5,0	Agar	13,5
Gjærekstrakt	3,0	Kolistin	0,01
Storfeekstrakt	3,0	Nalidiksinsyre	0,015
Maisstivelse	1,0	Saueblod, defibrinert	5 %

pH 7,3 ± 0,2

*Justert og/eller supplert etter behov for å oppfylle visse funksjonskriterier.

FORSIKTIGHETSREGLER

IVD . Kun til profesjonelt bruk. ⓧ

Skålene må ikke anvendes dersom de viser tegn på mikrobiell kontaminering, misfarging, uttørking, sprekkdannelse eller har andre tegn til forringelse.

Se dokumentet **GENERELL BRUKSANVISNING** for informasjon om aseptiske håndteringsprosedyrer, biologiske farer og avhending av brukte produkter.

OPPBEVARING OG HOLDBARHET

Etter mottak skal skålene oppbevares mørkt ved 2 til 8 °C i originalinnpakningen inntil like før de skal brukes. Unngå frost og overoppheting. Agarskålene kan inokuleres frem til utløpsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalte inkubasjonsperiodene.

Agarskåler fra åpne stabler på 10 skåler kan brukes i én uke når de oppbevares på et rent sted ved 2 til 8 °C. **Minimer eksponering for lys før og under inkubering, da det vil ødelegge kromogenene inkludert i CHROMagar Orientation Medium.**

KVALITETSKONTROLL FOR BRUKERE

Inokuler representative prøver med følgende stammer (for mer informasjon se dokumentet **GENERELL BRUKSANVISNING**). Inkuber skålene aerobt ved 35 til 37 °C i ikke mindre enn 20 til 24 timer.

Teststammer	CHROMagar Orientation Medium	Columbia CNA Agar
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	God til fremragende vekst; små kolonier, blågrønn til blå	God til fremragende vekst; grå kolonier; ingen hemolyse
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 12386	Nokså god til god vekst; ørsmå kolonier, blå	Nokså god til fremragende vekst; hvite til grå kolonier; beta-hemolyse
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	God til fremragende vekst, hvite til gulaktige kolonier	God til fremragende vekst; hvitaktige kolonier; beta-hemolyse
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Nokså god til fremragende vekst; middels til store kolonier, transparente, rosa	Fullstendig hemming
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 27736	God til fremragende vekst; middels store, dyp blå kolonier med eller uten blå ringer	Delvis til fullstendig hemming
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Nokså god til fremragende vekst; blågrønne kolonier; omgivende medium er ravgult til brunt	Delvis til fullstendig hemming
Ikke-inokulert	Fargeløs til svært lys gul, gjennomsiktig (kan inneholde opptil	Rød (blodfarget)

PROSEDYRE

Materialer som følger med

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (90 mm **Stacker**-biskåler).

Mikrobiologisk kontrollert.

Materialer som ikke følger med

Supplerende vekstmedier, reagenser og laboratorieutstyr etter behov.

Prøvetyper

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar brukes utelukkende til isolering, kvantitering og differensiering av bakterier i urin. Midtstrøms- eller kateterurin, eller urin som er hentet ved suprapubisk blærepunksjon kan brukes (se også **EGENSKAPER VED**

UTFØRELSEN OG BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN). Vær nøye med aseptiske teknikker ved innsamling av urinprøver. Urinen må strykes direkte på mediet (ikke senere enn 2 timer etter innsamlingen), ellers må den kjøles ned (ikke lenger enn 24 timer) for å unngå overvekst av smittefarlige stoffer eller forurensninger før inokulering av dette mediet.⁶⁻⁸

Testprosedyre

Samle inn en prøve av ufortynnet urin som er godt blandet med en kalibrert øse (0,01 eller 0,001 ml). Til inokulering av media i biskåler foretrekkes sløyfer på 0,001 ml (= 1 µl). Sørg for korrekt innhenting av prøven med øsen. Først inokuleres prøven på et lite område av overflaten på **CHROMagar Orientation Medium**. Deretter inokuleres det gjenværende området av dette mediet. Etterpå hentes det inn en ny prøve av urinen og fortsettes på samme måte for **Columbia CNA Agar**. Hvis 10 µl sløyfer brukes, anbefales en tidoblet forhåndstynnig av urinprøven i steril fysiologisk saltløsning. Inkuber den inokulerte skålen aerobt i snudd stilling ved 35 til 37 °C i 20 til 24 timer. Det anbefales ikke å inkubere denne biskålen i en atmosfære beriket med karbondioksid. **Sørg for minimal eksponering for lys under inkubering, da dette kan ødelegge kromogenene inkludert i CHROMagar Orientation Medium.** Så snart fargen på koloniene er utviklet, er det akseptabelt å eksponere for lys.

Bruk av kalibrerte øser eller andre vanlige teknikker for utsåing av urinprøver er obligatorisk for å oppnå isolerte kolonier med deres typiske farger og fasonger.

Resultater

Etter inkubering skal mediene vise isolerte kolonier i de områdene der inokulatet ble riktig fortynnet. **Skjema 1** skal brukes til identifisering eller differensiering, og som en retningslinje for ytterligere konfirmerende reaksjoner på **CHROMagar Orientation Medium**. Det kan brukes en Gram-farging og mikroskopi for å bekrefte resultatene.

På Columbia CNA Agar vil det oppstå vekst hvis det finnes Gram-positive bakterier. For informasjon om og tolkning av veksten på dette mediet, se referansene.^{5,9}

Bekreftende tester

Utfør konfirmeringstestene for **CHROMagar Orientation Medium** slik det er påkrevd (**skjema 1**). Ikke tilsett påvisingsreagens, slik som DMACA-indol eller andre reagenser direkte på koloniene på dette mediet. Testene bør i stedet utføres på filterpapir med vekst fra de respektive koloniene. Ikke bruk Kovacs indol-reagens for *E. coli*-kolonier, da fargen kan forstyrre den røde fargen for en positiv indol-test. I stedet skal det brukes dimetylamino-cinnamaldehyd (DMACA) indol-reagens.

Hvis andre konfirmeringstester eller biokjemiske identifikasjonssystemer brukes, må anvisningene for disse testene eller systemene følges.

Beregning og tolking av resultatene⁶⁻⁹

Tell antallet kolonier (cfu) på hvert av mediene. Hvis det ble brukt en 0,001 ml sløyfe, tilsvarer hver koloni 1000 CFU/ml urin.⁷

Midtstrøms- og kateterurin: Gjeldende retningslinjer indikerer at for ett enkelt isolat, vil en tetthet på $\geq 10^5$ cfu/ml indikere infeksjon, $< 10^5$ cfu/ml vil indikere forurensning fra urinrør eller vagina, og mellom 10^4 til 10^5 CFU/ml vil måtte reevalueres, basert på klinisk informasjon.

Forurensende bakterier vil vanligvis opptre i lavt antall, som varierer i kolonimorfologi.

Urin som er innsamlet ved suprapubisk blærepunksjon: Siden blæren er steril hos ikke-infiserte individer, vil ethvert funn av cfu indikere en infeksjon.

Urinveispatogener vil vanligvis vise høye tall med uniform kolonimorfologi og farge på dette mediet.

EGENSKAPER VED UTFØRELSEN OG BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (biskål) brukes til isolering, identifisering eller presumptiv identifisering av bakterier vanligvis involvert i infeksjoner i urinveiene.

CHROMagar Orientation Medium er et kromogent medium for isolering, direkte identifisering, differensiering og kvantitering av vanlige urinveispatogener. Mediet passer for isolering av mange mikroorganismer som vokser aerobt som *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* og andre ikke-fermenterende Gram-negative staver, enterokokker, stafylokokker og mange andre fra urinprøver.¹⁻³

Det muliggjør direkte identifisering av *Escherichia coli* ved kolonifarge og en bekreftende indol-test, og direkte identifisering av *Enterococcus* og *Streptococcus agalactiae* ved kolonifarge og en bekreftende PYR-test, eller alternativt, en serologisk agglutinerings-test for bestemmelse av Lancefield-gruppen. Andre organismer kan enten identifiseres etter gjennomføring av noen få bekreftende tester eller kan kreve en full biokjemisk identifisering, avhengig av arten. Siden de fleste vanlige urinveisinfeksjoner forårsakes av *E. coli* og/eller enterokokker, vil bruk av dette mediet redusere arbeidsmengden og tiden for inokulering og avlesingsidentifikasjonssystemer betydelig, noe som er nødvendig når konvensjonelle media brukes til isolering.

Columbia CNA Agar er et standardmedium til isolering og dyrking av en rekke aerobt voksende Gram-positive mikroorganismer, for eksempel streptokokker, stafylokokker, koryneformer, *Listeria* spp og andre.^{5,7,9}

Resultater ved utførelsen^{2,10}

To uavhengige funksjonsevalueringer ble utført på **CHROMagar Orientation Medium**. I begge evalueringene påviste det kromogene mediet flere patogener enn de tradisjonelle mediene brukt til sammenligning. Detaljer om den første evalueringen er publisert, og resultatene av den første og den andre evalueringen er tilgjengelig fra dokumentet **Bruksanvisning for BD CHROMagar Orientation Medium** (kat. nr. 254102).²

Begrensninger ved prosedyren

CHROMagar Orientation Medium: Kolonier som viser sin naturlige farge, og som ikke reagerer med de kromogene substratene, må differensieres ytterligere med egnede biokjemiske eller serologiske tester. Se referansene.^{9,11}

Gram-negative staver, bortsett fra de som hører til i KES-gruppen kan produsere store, blå kolonier på og krever derfor ytterligere biokjemiske tester for identifisering.¹¹

I svært sjeldne tilfeller kan *Listeria monocytogenes* eller andre *Listeria*-arter finnes i urin (f.eks. etter abort på grunn av disse agensene). *Listeria* vil produsere små, blå til blågrønne kolonier som er PYR-negative, og som ligner på *Streptococcus agalactiae* (se skjema 1). Det kan derfor være nyttig å utføre en Gram-farging av alle stammer som produserer små, blå til blågrønne, PYR-negative kolonier, på dette mediet. Forekomst av Gram-positive staver kan indikere *Listeria*-arter. Ytterligere biokjemiske tester er nødvendig for å bekrefte forekomsten av disse stoffene.

Svært sjeldent kan isolater av *Aeromonas hydrophila* produsere rosa kolonier. De kan differensieres fra *E. coli* med en oksidase-test (*Aeromonas* = positiv; *E. coli* = negativ).

Av og til kan koagulase-negative stafylokokker, bortsett fra *S. saprophyticus*, f.eks. *S. simulans*, *S. xylosus* og *S. intermedius*, anta en lysrød til rosa kolonifarge. Det er derfor nødvendig å utføre ytterligere tester (se skjema 1) på disse isolatene.

CHROMagar Orientation Medium vil ikke støtte veksten av organismer med kravstore næringsbehov, som *Neisseria*, *Haemophilus* eller *Mycoplasma* spp.

Bruken av dette mediet for ikke-kliniske eller kliniske prøver, bortsett fra urin, er ikke validert.

Før førstegangs bruk av **CHROMagar** Orientation Medium anbefales det å øve i typiske koloniutseender med definerte stammer, f.eks. stammene som er nevnt under

KVALITETSKONTROLL FOR BRUKERE.

Columbia CNA Agar: Bakterier som viser resistens mot de selektive ingrediensene, kan vokse på dette mediet.

Candida-arter og andre sopper hemmes ikke på dette mediet.

Selv om de er Gram-positive bakterier, kan aerobe sporedannere som *Bacillus* spp. hemmes på Columbia CNA Agar med 5 % saueblod.

Selv om visse diagnostiske tester kan utføres direkte på dette mediet, er det nødvendig å utføre biokjemiske og, om indisert, immunologiske tester ved hjelp av renkulturer for fullstendig identifisering.

Columbia Agar-basen har et relativt høyt karbohydratinnhold, og beta-hemolytiske streptokokker kan derfor danne en grønnaktig hemolytisk reaksjon som kan forveksles med alfa-hemolyse.

REFERANSER

1. Merlino, J., S. Siarakas, G. J. Robertson, G. R. Funnell, T. Gottlieb, and R. Bradbury. 1996. Evaluation of CHROMagar Orientation for differentiation and presumptive identification of gram-negative bacilli and *Enterococcus* species. J. Clin. Microbiol. 34: 1788-1793.
2. Hengstler, K.A., R. Hammann, and A.-M. Fahr. 1997. Evaluation of BBL CHROMagar Orientation medium for detection and presumptive identification of urinary tract pathogens. J. Clin. Microbiol. 35: 2773-2777.
3. Samra, Z., M. Heifetz, J. Talmor, E. Bain, and J. Bahar. 1998. Evaluation of use of a new chromogenic agar in detection of urinary tract pathogens. J. Clin. Microbiol. 36: 990-994.
4. 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.
5. MacFaddin, J. F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 269-275. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
6. Barry, A.L., P.B. Smith, and M. Turck. 1975. Cumitech 2, Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Coordinating ed., T.L. Gavan. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., and P.A. Granato. Processing specimens for bacteria. 1995. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Clarridge, J.E., M.T. Pezzlo, and K.L. Vosti. 1987. Cumitech 2A, Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Coordinating ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. 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.
10. Data on file. BD Diagnostic Systems Europe, Heidelberg, Germany.
11. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

FORPAKNING/TILGJENGELIGHET

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (biskål)

REF 254489	Ferdiglagde agarskåler, 20 stk.
REF 257727	Ferdiglagde agarskåler, 120 stk.

FLERE OPPLYSNINGER

Ta kontakt med din lokale BD-representant for mer informasjon.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

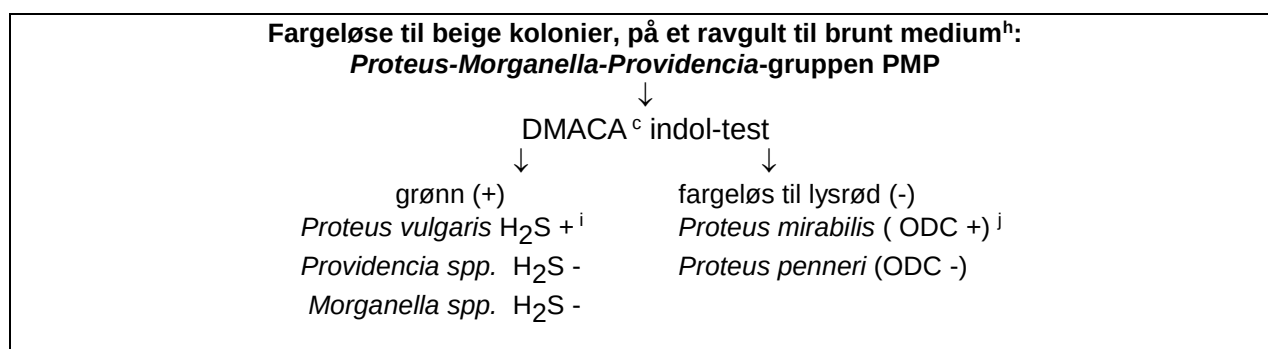
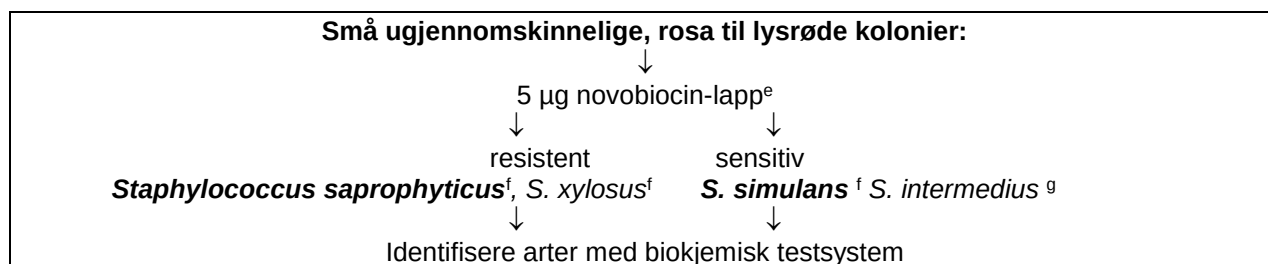
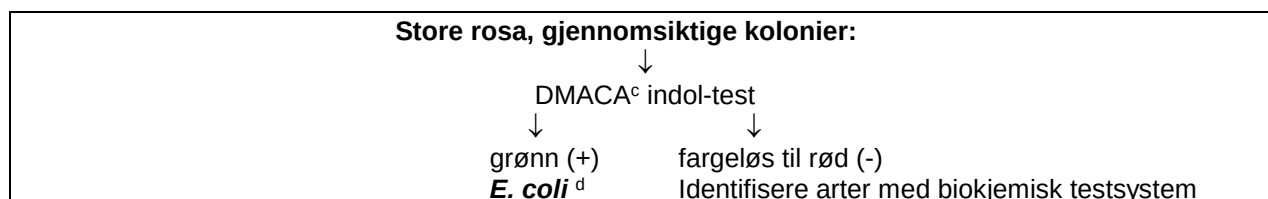
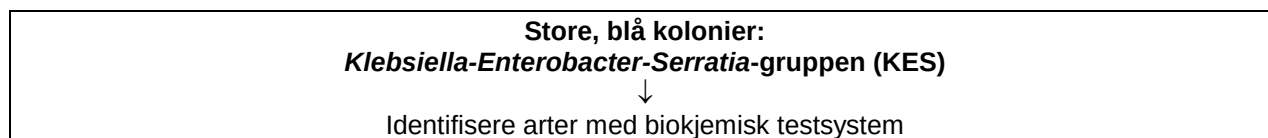
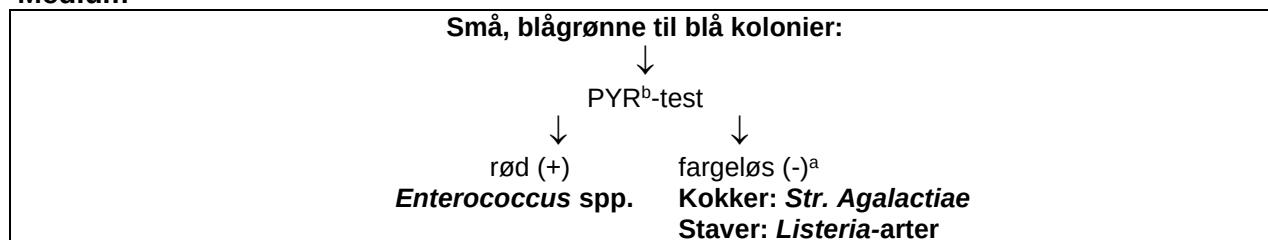
69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@bd.com

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach
 ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
 © 2019 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.

Skjema 1: Veiledning for forekomsten av kolonier, for funksjonen til bekreftende tester og den resulterende differensieringen eller identifiseringen på BD CHROMagar Orientation Medium



^a Gram-farging anbefales.

^b Pyroglutamattest for pyrrolidonyl-arylamidase. Serologiske tester for Lancefield-gruppen kan brukes i stedet for en PYR-test til differensiering av *Enterococcus* spp. fra *Streptococcus agalactiae*.

^c DMACA= Dimethylaminocinnamaldehyd-reagens for indol-produksjon. Tilsett reagens på filterpapiret og gni én koloni inn på området som inneholder reagens på filterpapiret. Vent i 10–20 sek. En **grønn** farge indikerer produksjon av indol (rød eller fargeløs = negativ). Ikke bruk Kovacs indol-reagens til testing av rosa kolonier!

^d En oksidasetest kan utføres på alle indol-positve, store rosa kolonier for å ekskludere *Aeromonas* (=oksidasepositiv).

^e Spredningsinokuler en Mueller Hinton II Agar-skål med isolatet. Plasser en novobiocin (5 µg lapp) på den inokulerte skålen. Inkuber i 18 til 24 timer ved 35 til 37 °C og mål størrelsen på hemningssonen (resistent: ≤ 16 mm, sensitiv: > 16 mm).

^f Kjent som humane patogener, kan også isoleres fra urin.

^g Ikke kjent som isolert fra human urin.

^h Den ravgule til brune fargen er forårsaket av positiv tryptofandeaminase (TDA), felles for alle organismer i PMP-gruppen. Ca. 50 % av *P. vulgaris*-stammene produserer blå kolonier på et ravgult til brunt medium

ⁱ Konvensjonell hydrogensulfidtest.

^j Konvensjonell ornitindekarboksylasetest.