



BD CHROMagar Orientation Medium/Columbia CNA Agar (Biplate)

НАЗНАЧЕНИЕ

BD CHROMagar Orientation Medium/Columbia CNA Agar (Biplate) (дифференциальная среда CHROMagar Orientation Medium/колумбийский агар с CNA и 5 % овечьей крови [двойная чашка]) используется для изоляции бактерий, вызывающих инфекционные заболевания мочевыводящих путей. Дифференциальная среда **CHROMagar Orientation Medium** является неселективной средой для изоляции, идентификации или дифференцирования патогенных микроорганизмов мочевыводящих путей, тогда как колумбийский агар с CNA Columbia CNA Agar является селективной средой для изоляции грамположительных бактерий.

ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод.

Дифференциальная среда **CHROMagar Orientation Medium**. *Escherichia coli*, энтерококки, группы *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* и *Proteus-Morganella-Providencia* являются наиболее часто встречающимися микроорганизмами, вызывающими инфекции мочевыводящих путей. От 60 до 70 % инфекций мочевыводящих путей вызываются *E. coli* в чистом виде или совместно с энтерококками. У женщин при инфекциях мочевыводящих путей также обнаруживаются, хотя и реже, *Staphylococcus saprophyticus* и *Streptococcus agalactiae*. Некоторые из рассмотренных микроорганизмов вырабатывают ферменты для метаболизма лактозы или глюкозидов (или оба типа ферментов), тогда как другие не вырабатывают ни одного из этих ферментов. Например, *E. coli* вырабатывает ферменты метаболизма лактозы, но дает отрицательный результат в тесте на бета-глюкозидазу. Другие представители семейства *Enterobacteriaceae* дают положительный результат в тесте на бета-глюкозидазу, но не содержат ферментов, необходимых для ферментации лактозы, тогда как другие могут содержать оба типа ферментов или ни одного из них. Бета-глюкозидазы также обнаруживаются в грамположительных кокках, таких как *Enterococcus* spp. и *Streptococcus agalactiae*. Триптофандеаминаза (TDA) является ферментом, характерным для группы микроорганизмов *Proteus-Morganella-Providencia*. Дифференциальная среда **CHROMagar Orientation Medium** позволяет идентифицировать *E. coli*, энтерококки, большинство штаммов *Staphylococcus saprophyticus* и *S. simulans* непосредственно в чашке для изоляции; кроме того, возможна предположительная идентификация групп *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (KES) и *Proteus-Morganella-Providencia* (PMP) по окрашиванию колонии и среды.¹⁻³ Поскольку дифференциальная среда **CHROMagar Orientation Medium** является неселективной, другие патогенные микроорганизмы мочевыводящих путей будут расти, но для их идентификации необходимы биохимические тесты.

Дифференциальная среда **CHROMagar Orientation Medium** разработана А. Рамбахом (А. Rambach) и поставляется компанией BD Diagnostic Systems в соответствии с лицензионным соглашением с компанией CHROMagar, г. Париж, Франция.

В дифференциальной среде **CHROMagar Orientation Medium** источником питательных веществ являются специально подобранные пептоны. Хромогенная смесь состоит из синтетических субстратов (хромогены), которые высвобождают различно окрашенные вещества при разрушении под действием определенных ферментов микроорганизмов, тем самым обеспечивая непосредственное дифференцирование определенных видов или обнаружение определенных групп микроорганизмов при минимальном числе подтверждающих тестов.

Колумбийский агар с CNA Columbia CNA Agar. Эллнер (Ellner) и др. сообщили о разработке рецептуры кровяного агара, который был назван как колумбийский агар Columbia Agar.⁴ Эта среда, обеспечивающая более крупные колонии и более интенсивный рост по сравнению с сопоставимыми основами из кровяного агара, используется для сред, содержащих кровь, и для селективных рецептур. Эллнер и др. обнаружили, что среда, содержащая 10 мг колистина и 15 мг налидиксовой кислоты на литр основы из колумбийского агара, обогащенного 5 % овечьей крови, поддерживает рост стафилококков, гемолитических стрептококков и энтерококков, замедляя при этом рост видов *Proteus*, *Klebsiella* и *Pseudomonas*.^{8,9}

Колумбийский агар Columbia Agar представляет собой высокопитательную основу среды. Добавление противомикробных препаратов, колистина и налидиксовой кислоты делает эту среду селективной для грамположительных микроорганизмов, особенно стрептококков и стафилококков. Овечья кровь добавляется в среду для обнаружения гемолитических реакций.^{4,5}

РЕАГЕНТЫ

BD CHROMagar Orientation Medium/Columbia CNA Agar (Biplate)

Примерные рецептуры* на литр очищенной воды

CHROMagar Orientation Medium	
Хромопептоны	16,1 г
Смесь хромогенных веществ	1,3
Агар	15,0

pH 6,9 ± 0,2

Columbia CNA Agar			
Панкреатический гидролизат казеина	12,0 г	Натрия хлорид	5,0 г
Пептический гидролизат животной ткани	5,0	Агар	13,5
Дрожжевой экстракт	3,0	Колистин	0,01
Мясной экстракт	3,0	Налидиксовая кислота	0,015
Кукурузный крахмал	1,0	Овечья кровь, дефибринированная	5 %

pH 7,3 ± 0,2

* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

IVD Только для профессионального применения. ⓧ

Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта.

Прочитайте документ **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**, в котором приведено описание асептических методов работы, биологических опасностей и утилизации использованных продуктов.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

После получения храните чашки **в темноте** при температуре от 2 до 8 °C в оригинальной упаковке до начала использования. Избегайте замораживания и перегрева. Чашки могут быть засеяны до даты истечения срока годности (см. этикетку на упаковке) и инкубированы в течение рекомендованного времени инкубации.

Чашки из открытых стопок по 10 чашек могут использоваться в течение одной недели при условии хранения с соблюдением чистоты при температуре от 2 до 8 °C. **Перед инкубацией и в процессе инкубации избегайте воздействия света, так как он может вызвать разрушение хромогенных субстратов, входящих в состав дифференциальной среды CHROMagar Orientation Medium.**

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Засейте репрезентативные образцы следующими штаммами (подробные сведения см. в документе **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**). Инкубируйте чашки в анаэробных условиях при температуре 35 – 37 °С не менее 20 – 24 ч.

Тестовые штаммы	CHROMagar Orientation Medium	Columbia CNA Agar
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Рост от хорошего до превосходного; колонии малых размеров, от сине-зеленого до синего цвета	Рост от хорошего до превосходного; колонии серого цвета, без гемолиза
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 12386	Рост от умеренного до хорошего; колонии маленькие, синего цвета	Рост от умеренного до превосходного; колонии от белого до серого цвета, с бета-гемолизом
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Рост от хорошего до превосходного; колонии от белого до желто-коричневого цвета	Рост от хорошего до превосходного; колонии белесого цвета, с бета-гемолизом
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Рост от умеренного до превосходного; колонии среднего размера, от прозрачных до розовых	Полное ингибирование
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 27736	Рост от хорошего до превосходного; колонии среднего размера, темно-синего цвета, с синими ореолами или без них	Ингибирование от частичного до полного
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Рост от умеренного до превосходного; колонии сине-зеленого цвета, окруженные средой от янтарного до коричневого цвета	Ингибирование от частичного до полного
Незасеянные	От бесцветных до очень светлых янтарных, прозрачные (могут содержать некоторое количество мелких частиц, но не более чем умеренное)	Красный цвет (цвет крови)

МЕТОДИКА

Поставляемые материалы

BD CHROMagar Orientation Medium/Columbia CNA Agar (двойные чашки **Stacker 90 мм**). Свободные от микроорганизмов.

Непредоставляемые материалы

Дополнительная питательная среда, реагенты и лабораторное оборудование по мере необходимости.

Типы образцов

Дифференциальная среда/колумбийский агар с CNA **BD CHROMagar Orientation Medium/Columbia CNA Agar** используется исключительно для подсчета и дифференцирования бактерий в моче. Может использоваться средняя порция мочи или моча из катетера, а также моча, полученная при надлобковой пункции мочевого пузыря (см. также **ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ**). При сборе образцов мочи соблюдайте асептические методики работы. Мочу следует наносить штрихами прямо на среду (не позднее чем через 2 ч после сбора) или хранить в холодильнике (не дольше 24 ч) для предотвращения чрезмерного роста возбудителей инфекции или загрязнений до посева на среду.^{6–8}

Методика тестирования

Возьмите образец неразбавленной, хорошо перемешанной мочи с помощью калиброванной петли (0,01 или 0,001 мл). Для посева среды в двойных чашках предпочтительно использовать петли 0,001 мл (1 мкл). Убедитесь в правильности нанесения образца на петлю. Сначала засейте образец на небольшом участке поверхности дифференциальной среды **CHROMagar Orientation Medium**, а затем засейте оставшуюся область. После этого соберите новый образец из мочи и выполните аналогичную процедуру для колумбийского агара с CNA **Columbia CNA Agar**. Если используются петли 10 мкл, рекомендуется выполнить десятикратное разбавление образца мочи в стерильном физиологическом растворе. Инкубируйте засеянную чашку в перевернутом положении при температуре 35 – 37 °C в анаэробных условиях в течение 20 – 24 ч. Не рекомендуется инкубировать данную чашку в атмосфере, обогащенной диоксидом углерода. **В процессе инкубации избегайте воздействия света, так как он может вызвать разрушение хромогенных веществ содержащихся в дифференциальной среде CHROMagar Orientation Medium.** После проявления окраски колоний воздействие света допустимо.

Для получения изолированных колоний типичной формы и окраски необходимо использовать калиброванные петли или другие методики, обычно используемые при посеве образцов мочи.

Результаты

После инкубации в среде должны быть видны изолированные колонии на участках с надлежащим разбавлением посевной культуры. Используйте **схему 1** для идентификации или дифференцирования, а также в качестве руководства для проведения дополнительных подтверждающих реакций на дифференциальной среде **CHROMagar Orientation Medium**. Для подтверждения результатов можно использовать окрашивание по Граму и микроскопическое исследование.

На колумбийском агаре с CNA Columbia CNA Agar рост будет наблюдаться только в том случае, если присутствуют грамположительные бактерии. Подробную информацию о росте в данной среде и его интерпретации см. в справочных материалах.^{5,9}

Подтверждающие тесты

Выполните необходимые подтверждающие тесты для дифференциальной среды **CHROMagar Orientation Medium (схема 1)**. Не наносите реагенты, такие как реагент ДМАСА для обнаружения индола или другие реагенты, непосредственно на колонии в данной среде. Вместо этого следует выполнять тесты на фильтровальной бумаге, используя культуры из соответствующих колоний.

Не используйте индольный реагент Ковача для колоний *E. coli*, поскольку цвет этих колоний может препятствовать наблюдению красного цвета положительного теста на индол; вместо этого следует использовать индольный реагент с диметиламинокоричным альдегидом (ДМАСА).

При использовании других подтверждающих тестов или биохимических идентификационных систем необходимо соблюдать инструкции к этим тестам или системам.

Подсчет и интерпретация результатов⁶⁻⁹

Подсчитайте число колоний (КОЕ) в каждой среде. Если использовались петли 0,001 мл, каждая колония соответствует 1000 КОЕ/мл мочи.⁷

Средняя порция мочи и моча из катетера. Согласно современным рекомендациям один изолят плотностью $\geq 10^5$ КОЕ/мл свидетельствует о наличии инфекции, плотность менее 10^5 КОЕ/мл указывает на наличие уретральной или вагинальной контаминации, а при плотности от 10^4 до 10^5 КОЕ/мл требуется повторная оценка на основе клинических данных. Контаминирующие бактерии обычно проявляются в небольших количествах с разнообразной морфологией колоний.

Моча, полученная при надлобковой пункции мочевого пузыря. Поскольку у неинфицированных пациентов мочевого пузыря стерил, любое значение числа КОЕ свидетельствует о наличии инфекции.

При наличии патогенных микроорганизмов мочевыводящих путей обычно наблюдаются большие количественные значения при единообразной морфологии колоний и цвете в данной среде.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Дифференциальная среда/колумбийский агар с CNA (двойная чашка) **BD CHROMagar Orientation Medium/Columbia CNA Agar (Biplate)** используется для изоляции, идентификации или предположительной идентификации бактерий, вызывающих инфекционные заболевания мочевыводящих путей.

Дифференциальная среда **CHROMagar Orientation Medium** является хромогенной средой для прямого определения, дифференцирования и подсчета типичных патогенных микроорганизмов мочевыводящих путей. Данная среда позволяет выделять из образцов мочи большинство анаэробных микроорганизмов, таких как *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* и другие неферментирующие грамотрицательные палочки, энтерококки, стафилококки и многие другие.¹⁻³

Она позволяет выполнить прямое определение колоний *Escherichia coli* по цвету и подтверждающему тесту на индол, а также прямое определение колоний *Enterococcus* и *Streptococcus agalactiae* по цвету и подтверждающему тесту PYR. В качестве альтернативы можно провести серологический агглютинационный тест для определения группы по Лэнсфилд. Другие микроорганизмы можно определить либо по результатам проведения нескольких подтверждающих тестов, либо может потребоваться полная биохимическая идентификация в зависимости от видов. Поскольку большинство типичных инфекций мочевыводящих путей вызывается *E. coli* и (или) энтерококками, использование этой среды существенно снижает трудоемкость и сокращает время посева и считывания систем идентификации, необходимых при использовании обычных сред для изоляции. Колумбийский агар с CNA **Columbia CNA Agar** является стандартной средой для изоляции и культивирования многих анаэробно растущих грамположительных микроорганизмов, например стрептококков, стафилококков, коринеформных бактерий, видов *Listeria* и др.^{5,7,9}

Результаты определения эффективности^{2,10}

Были проведены две независимые оценки эффективности для дифференциальной среды **CHROMagar Orientation Medium**. Обе оценки свидетельствуют о том, что в хромогенной среде было определено больше патогенных микроорганизмов, чем в обычной среде. Подробная информация о первой оценке была опубликована, и результаты первой и второй оценки см. в документе **Инструкции по применению** дифференциальной среды **BD CHROMagar Orientation Medium** (№ по каталогу 254102).²

Ограничения применения методики

Дифференциальная среда **CHROMagar Orientation Medium**. Колонии, имеющие естественную окраску и не реагирующие с хромогенными субстратами, следует далее дифференцировать с помощью соответствующих биохимических или серологических тестов. См. справочные материалы.^{9,11}

Грамотрицательные палочки, не принадлежащие к группе KES, могут образовывать крупные колонии синего цвета, поэтому для их идентификации необходимы дополнительные биохимические тесты.¹¹ В очень редких случаях *Listeria monocytogenes* или другие виды *Listeria* могут присутствовать в моче (например, после аборта, вызванного этими агентами). *Listeria* будет образовывать колонии малых размеров, от синего до сине-зеленого цвета, которые дают отрицательный результат в тесте PYR, тем самым подражая *Streptococcus agalactiae* (см. схему 1). Поэтому может оказаться полезным приготовление окрашенного по Граму препарата всех штаммов, образующих в этой среде колонии небольших размеров, имеющие цвет от синего до сине-зеленого и дающие отрицательный результат в тесте PYR. Присутствие грамположительных палочек может указывать на наличие видов *Listeria*. Для подтверждения наличия данных агентов необходимо проведение дополнительных биохимических тестов.

Очень редко изоляты *Aeromonas hydrophila* могут вырабатывать колонии розового цвета. Их можно дифференцировать от *E. coli* с помощью теста на оксидазу (положительный результат для *Aeromonas* и отрицательный результат для *E. coli*).

Иногда колонии коагулаза-отрицательных стафилококков, отличных от *S. saprophyticus*, например *S. simulans*, *S. xylosus* и *S. intermedius*, могут принимать цвет от розоватого до розового. Поэтому с такими изолятами необходимо проведение дополнительных тестов (см. схему 1).

Дифференциальная среда **CHROMagar** Orientation Medium не поддерживает рост микроорганизмов, требовательных к питательной среде, таких как *Neisseria*, *Haemophilus* или *Mycoplasma* spp.

Использование данной среды для неклинических или клинических образцов не утверждено.

Перед первым использованием дифференциальной среды **CHROMagar** Orientation Medium рекомендуется ознакомиться с типичным внешним видом колоний на примере известных штаммов, например штаммов, указанных в разделе **КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**.

Колумбийский агар с CNA Columbia CNA Agar. Бактерии проявляют устойчивость к возможному росту селективных ингредиентов в данной среде.

Рост видов *Candida* и других грибов не замедляется в данной среде.

Рост анаэробных спорообразующих микроорганизмов, например видов *Bacillus*, может замедляться в колумбийском агаре с CNA и 5 % овечьей крови Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, несмотря на то, что эти микроорганизмы относятся к грамположительным бактериям.

Несмотря на то, что определенные диагностические тесты можно выполнять непосредственно в данной среде, для полной идентификации необходимо провести биохимическое и, если показано, иммунологическое тестирование с использованием чистых культур.

Основа из колумбийского агара характеризуется относительно высоким содержанием углеводов, поэтому бета-гемолитические стрептококки могут вызывать зеленоватый цвет при гемолитической реакции, которая может быть ошибочно принята за альфа-гемолиз.

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

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. Данные из архива. Компания BD Diagnostic Systems Europe, г. Гейдельберг, Германия.
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.

УПАКОВКА И НАЛИЧИЕ

BD CHROMagar Orientation Medium/Columbia CNA Agar (Biplate)

REF 254489

Готовая к использованию среда в чашках; 20 чашек

REF 257727

Готовая к использованию среда в чашках; 120 чашек

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для получения дополнительной информации обратитесь к местному представителю компании BD.



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

<http://www.bd.com>

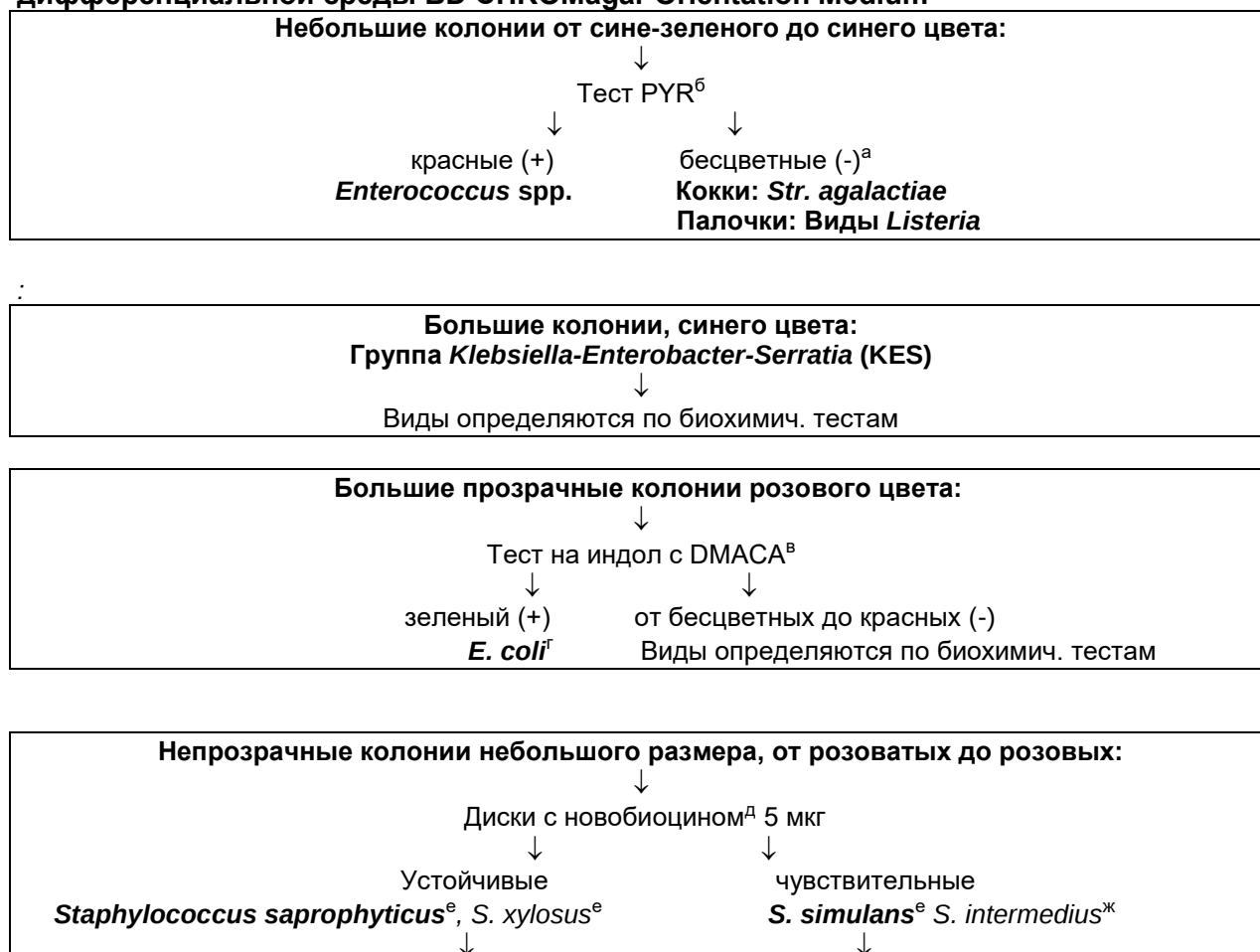
<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

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.

Схема 1. Руководство для определения колоний по внешнему виду, выполнения подтверждающих тестов, интерпретации результатов или определения с помощью дифференциальной среды BD CHROMagar Orientation Medium



**Колонии от бесцветных до цвета беж, на среде от янтарного до коричневого цвета³:
Группа *Proteus-Morganella-Providencia* PMP**

↓
Тест на индол с DMACA^В

↓
зеленый (+)

Proteus vulgaris H₂S +^и

Providencia spp. H₂S -

Morganella spp. H₂S -

↓
от бесцветных до розовых (-)

Proteus mirabilis (ODC +)^к

Proteus penneri (ODC -)

^а Рекомендуется окрашивание по Граму.

^б Тест на пирролидонилариламидазу с пироглутаматом. Можно использовать серологические тесты для группировки по Лэнсфилд вместо теста PYR для определения видов *Enterococcus* из *Streptococcus agalactiae*.

^в DMACA = реагент на основе диметиламинокоричного альдегида для выработки индола. Нанесите реагент на фильтровальную бумагу и разотрите одну колонию на участке фильтровальной бумаги, содержащем реагент. Подождите 10 – 20 с. **Зеленое** окрашивание указывает на выработку индола (красное окрашивание или отсутствие окрашивания соответствует отрицательному результату). Не используйте индольный реагент Ковача для тестирования розовых колоний!

^г Тест на оксидазу можно проводить на всех индолположительных, больших розовых колониях для исключения *Aeromonas* (положительная реакция в тесте на оксидазу).

^д Выполните посев изолята с распределением в чашке с агаром Мюллера-Хинтона Mueller Hinton II Agar. Поместите новобиоцин (диск 5 мкг) в чашку с посевом. Инкубируйте в течение 18 – 24 ч при температуре 35 – 37 °С, затем измерьте зону ингибирования (устойчивые: ≤ 16 мм, чувствительные: > 16 мм).

^е Известны как человеческие патогены; могут также быть изолированы из мочи.

^ж Не могут быть изолированы из человеческой мочи.

^з Окрашивание от янтарного до коричневого цвета обусловлено положительной триптофандеаминой (TDA), общей для всех микроорганизмов группы PMP. Около 50 % штаммов *P. vulgaris* образуют колонии синего цвета на среде от янтарного до коричневого цвета.

^и Стандартный тест на сероводород.

^к Стандартный тест на орнитиндекарбоксилазу.