



BD Columbia Agar With 5% Horse Blood

НАЗНАЧЕНИЕ

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood (Колумбийский агар с 5 % лошадиной крови) является высокопитательной средой общего назначения для выделения и культивирования нетребовательных и требовательных к питательной среде микроорганизмов из клинических образцов.

ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод.

В 1966 г. Элльнер (Ellner) и др. сообщили о разработке рецептуры кровяного агара, который получил название колумбийского агара.¹ Колумбийский агар с 5 % лошадиной крови обеспечивает превосходные возможности роста благодаря комбинации двух пептонов и экстракту дрожжей в качестве источника комплексных витаминов В. Кукурузный крахмал, предназначенный для поглощения токсичных побочных продуктов, содержится в образце и выполняет функции источника энергии для микроорганизмов, обладающих альфа-амилазами. Лошадиная кровь позволяет обнаруживать гемолитические реакции и служит источником X-фактора (гема) и V-фактора (никотинамидадениндинуклеотида, НАД), необходимых для роста многих видов бактерий, включая *Haemophilus influenzae*, которым требуются X- и V-факторы. Колумбийский кровяной агар характеризуется относительно высоким содержанием углеводов, поэтому бета-гемолитические стрептококки могут вызывать зеленоватый цвет при гемолитической реакции, которая может быть ошибочно принята за альфа-гемолиз. На колумбийском агаре с добавлением лошадиной крови такой зеленоватый цвет гемолитической реакции стрептококков наблюдается реже, чем при добавлении овечьей крови.² Следует отметить, что бета-гемолитические реакции зависят от типа добавляемой крови; например, энтерококки, которые очень редко гемолизуют овечью кровь, демонстрируют заметный бета-гемолиз в лошадиной крови. *Staphylococcus aureus*, обычно вызывающий бета-гемолиз в овечьей крови, часто не вызывает гемолиз в лошадиной крови.

В данной среде колонии укрупняются и растут интенсивнее, чем в среде, основанной на другом кровяном агаре. Колумбийский кровяной агар рекомендуется в качестве первичной среды изоляции в стандартах MiQ.³ Во многих европейских странах данная среда часто используется в качестве первичной среды изоляции для клинических образцов.

РЕАГЕНТЫ

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

Рецептура* на литр очищенной воды

Панкреатический гидролизат казеина	12,0 г
Пептический гидролизат животной ткани	5,0
Дрожжевой экстракт	3,5
Мясной экстракт	3,0
Кукурузный крахмал	1,0
Натрия хлорид	5,0
Агар	13,5
Лошадиная 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 обертке 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.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Засейте репрезентативные образцы следующими штаммами (подробные сведения см. в документе **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**). Выдерживайте засеянные чашки при температуре 35 ± 2 °C в аэробной атмосфере, обогащенной диоксидом углерода. Проверьте чашки через 18 – 24 ч. на интенсивность роста, размер колонии и гемолитические реакции.

Штаммы	Результаты роста
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Рост; бета-гемолиз
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Рост; альфа-гемолиз
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Рост; бета-гемолиз
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Рост; возможен бета-гемолиз
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Рост
Незасеянные	Красный цвет (цвет крови)

МЕТОДИКА

Поставляемые материалы

BD Columbia Agar with 5 % Horse Blood (чашки **Stacker** 90 мм). Свободные от микроорганизмов.

Непредоставляемые материалы

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

Типы образцов

Это универсальная среда изоляции, которая может использоваться для работы с бактериологическими образцами всех типов (см. также раздел **ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ**).

Методика тестирования

Выполните посев образца как можно скорее после поступления в лабораторию. Чашка для посева используется, главным образом, для отделения чистых культур от образцов, содержащих смешанную флору.

В качестве альтернативы, если материал засевают с тампона, следует перевернуть тампон над небольшим участком поверхности возле края, а затем сделать штрихи с этого участка. Следует включать соответствующую селективную среду для обнаружения конкретных патогенных микроорганизмов, такую как агар **BD MacConkey II Agar** для изоляции *Enterobacteriaceae* и других грамотрицательных палочек.

Поскольку для поддержания первичного выделения многих патогенных микроорганизмов требуется диоксид углерода, чашки колумбийского агара с 5 % лошадиной крови **BD**

Columbia Agar with 5 % Horse Blood следует инкубировать в атмосфере с содержанием около 3 – 10 % CO₂. Инкубируйте чашки при температуре 35 ± 2 °C в течение 18 – 72 ч. Проведите считывание спустя 18 – 24 ч и выполните повторную инкубацию, если необходимо.

Результаты

После инкубации в большинстве чашек будут наблюдаться области сливающегося роста. Процедура нанесения штрихов фактически работает как техника разбавления, поэтому в области штрихов откладывается меньшее количество микроорганизмов. Таким образом, в одной или нескольких таких областях должно наблюдаться изолированное появление колоний микроорганизмов, содержащихся в образце. Впоследствии рост каждого микроорганизма может быть оценен полуколичественным методом на основании роста в каждой области штрихов. См. соответствующие справочные материалы с описанием внешнего вида и дальнейшего дифференциального тестирования изолированных микроорганизмов.^{2,3}

Типичная морфология колонии часто выделяемых микроорганизмов в колумбийском агаре с 5 % лошадиной крови **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood**:

Стрептококки (не входящие в группу D)	Небольшие колонии от белого до сероватого цвета; бета- или альфа-гемолиз
Энтерококки (группа D)	Небольшие колонии, однако превышающие по размеру колонии стрептококков группы A, сероватые; бета-гемолиз
Стафилококки	Крупные колонии от белого до серого или от кремового до желтого цвета, с гемолизом или без него
Коринебактерии	Небольшие или крупные колонии от белого до серого или желтого цвета, с гемолизом или без него
<i>Listeria monocytogenes</i>	Небольшие или средние колонии сероватого цвета со слабым бета-гемолизом
<i>Enterobacteriaceae</i>	Средние или крупные колонии серого цвета с гемолизом или без него
Виды <i>Candida</i>	Небольшие колонии белого цвета

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Эта среда позволяет выделять и культивировать многие аэробные микроорганизмы, такие как *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* и другие неферментирующие грамотрицательные палочки, стрептококки, стафилококки, коринеформные бактерии, виды *Candida* и многие другие.²⁻⁴

Колумбийский агар с добавлением лошадиной крови обеспечивает более ярко выраженный бета-гемолиз стрептококков по сравнению с использованием овечьей крови.² Гемолитические свойства, описанные в диагностических справочниках, обычно приводятся для овечьей крови. При использовании среды с лошадиной кровью, такой как колумбийский агар с 5 % лошадиной крови **BD Columbia Agar with 5 % Horse Blood**, эти характеристики могут отличаться (см. также раздел **ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ**).

Колонии бактерии *Haemophilus haemolyticus*, которая является частью нормальной флоры горла, вызывают бета-гемолиз на агаре с лошадиной и кроличьей кровью, и их следует отличать от колоний бета-гемолитических стрептококков. Чтобы обойти эту проблему, было предложено использовать овечью кровь, поскольку она не содержит в достаточном количестве пиридиновые нуклеотиды и не поддерживает рост *H. haemolyticus*.⁵ *Neisseria gonorrhoeae* плохо растет в данной среде. Для обнаружения этих микроорганизмов следует использовать шоколадный агар.

Данная среда также не подходит для изоляции и роста *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* и других микроорганизмов с высоко специфичными потребностями в питательных веществах.

Количество и видовое разнообразие бактерий, являющихся возбудителями инфекций, очень велико. Поэтому перед использованием данной среды для редко выделяемых или

недавно описанных микроорганизмов пользователь должен сначала протестировать ее на пригодность путем культивирования чистой культуры исследуемого микроорганизма. Несмотря на то, что определенные диагностические тесты можно выполнять непосредственно в этой среде, для полной идентификации необходимо провести биохимическое и, если показано, иммунологическое тестирования с использованием чистых культур. Дополнительные сведения см. в соответствующих справочных материалах.^{4,5}

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

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. Tenover, and R. H. Tenover (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. Tenover. 1994. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 9th ed., p. 415. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.

УПАКОВКА И НАЛИЧИЕ

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

№ по каталогу 256006 Готовая к использованию среда в чашках; 20 чашек

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для получения дополнительной информации обратитесь к местному представителю компании 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