

BD Columbia Agar With 5% Horse Blood

VERWENDUNGSZWECK

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood ist ein nährstoffreiches Mehrzweckmedium zur Isolierung und Kultivierung von nicht anspruchsvollen und anspruchsvollen Mikroorganismen aus klinischen Proben.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Ellner et al.¹ berichteten 1966 über die Entwicklung einer neuen Blutagar-Zusammensetzung, die als Columbia-Agar bezeichnet wurde. Die hervorragenden Wachstums-unterstützenden Eigenschaften von Columbia-Agar mit 5 % Pferdeblut leiten sich aus der Kombination von zwei Peptonen und Hefeextrakt als Quelle des Vitamin-B-Komplexes ab. Die ebenfalls enthaltene Maisstärke absorbiert toxische Nebenprodukte der Probe und dient als Energiequelle für Organismen mit alpha-Amylase. Pferdeblut ermöglicht den Nachweis von Hämolysereaktionen und liefert sowohl den Faktor X (Häm) als auch den Faktor V (Nikotinamidadenindinukleotid, NAD), welche beide für das Wachstum von vielen bakteriellen Spezies notwendig sind, einschließlich *Haemophilus influenzae*, welches die Faktoren X und V benötigt. Columbia-Blutagar weist einen relativ hohen Kohlenhydratanteil auf, wodurch beta-hämolytische Streptokokken eine grünliche hämolytische Reaktion hervorrufen können, die fälschlicherweise als alpha-Hämolyse interpretiert werden kann. Diese grünliche Hämolysereaktion von Streptokokken wird jedoch weniger oft auf mit Pferdeblut angereichertem Columbia-Agar beobachtet, als auf dem gleichen mit Schafblut angereicherten Medium.² Es wird darauf hingewiesen, dass beta-hämolytische Reaktionen von der Art des beigefügten Blutes abhängen. So produzieren beispielsweise Enterokokken, die nur sehr selten Schafblut hämolyisieren, eine gut sichtbare Beta-Hämolyse auf Pferdeblut. *Staphylococcus aureus*, im Allgemeinen beta-hämolytisch in Verbindung mit Schafblut, ruft auf Pferdeblut oftmals keine Hämolyse-Reaktion hervor.

Auf diesem Medium sind die Kolonien tendenziell größer und das Wachstum ist ausgeprägter als auf anderen Blutagar-Medien. Columbia-Blutagar wird in den Mikrobiologisch-Infektiologischen Qualitätsstandards (MIQ) als Medium zur Erstisolierung empfohlen.³ In vielen europäischen Ländern ist es das am häufigsten verwendete Erstisolierungs-Medium für klinische Proben.

REAGENZIEN

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	12,0 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	5,0
Hefeextrakt	3,5
Rindfleischextrakt	3,0
Maisstärke	1,0
Natriumchlorid	5,0
Agar	13,5
Pferdeblut, defibriert	5 %

pH 7,3 +/- 0,2

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch. ⊗

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Inokulierte Platten bei 35 ± 2 °C in einer mit Kohlendioxid angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren.

Platten nach 18 – 24 h auf Wachstum, Koloniegroße und Hämolysereaktionen überprüfen.

Stämme	Wachstum
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Wachstum, Beta-Hämolyse
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Wachstum, Alpha-Hämolyse
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Wachstum, Beta-Hämolyse
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Wachstum; möglicherweise beta-hämolytisch
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Wachstum
Nicht inokuliert	Rot (blutfarben)

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood (90 mm **Stacker**-Platten). Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Dieses Produkt ist ein Universal-Isolierungsmedium, das für alle Arten von aerob inkubierten bakteriologischen Proben verwendet werden kann (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

Testverfahren

Probe möglichst bald nach Eingang im Labor ausstreichen. Diese Platte wird hauptsächlich zur Isolierung von Reinkulturen aus Proben mit einer gemischten Flora verwendet.

Falls das Material direkt von einem Tupfer kultiviert wird, Tupfer über einen kleinen Bereich am Rand der Oberfläche rollen; anschließend zur Isolierung aus dieser inokulierten Fläche ausstreichen. Geeignete selektive Medien zum Nachweis spezifischer Erreger, z.B. **BD MacConkey II Agar** zur Isolierung von *Enterobacteriaceae* und anderen gramnegativen Stäbchen sollten ebenfalls inokuliert werden.

Da zur Erstisolierung vieler Erreger CO₂ erforderlich ist, sollten die **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood**-Platten in einer aeroben Atmosphäre mit etwa 3 – 10 % CO₂ inkubiert werden. Platten 18 – 72 h bei 35 ± 2 °C inkubieren. Ergebnisse erstmals nach 18 – 24 h ablesen und, falls erforderlich, Platten erneut inkubieren.

Ergebnisse

Nach der Inkubation werden die meisten Platten einen Bereich konfluierendes Wachstums aufweisen. Da das Ausstreichen in Wirklichkeit eine „Verdünnungstechnik“ darstellt, wird eine sich verringere Anzahl von Mikroorganismen auf den ausgestrichenen Bereichen abgelagert. Folglich sollten einer oder mehrere dieser Bereiche isolierte Kolonien der in der Probe enthaltenen Organismen aufweisen. Außerdem kann das Wachstum jedes Organismus auf der Basis des Wachstums in jedem der ausgestrichenen Bereiche semi-quantitativ bestimmt werden. Erscheinungsbild und weitere Differenzierungstests der isolierten Organismen sind der entsprechenden Literatur zu entnehmen.^{2,3}

Die folgende Tabelle beschreibt die typische Koloniemorphologie von häufig auf **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** isolierten Organismen:

Streptokokken (außer Gruppe D)	Klein, weiß bis grünlich Beta- oder Alpha-Hämolyse
Enterokokken (Gruppe D)	Klein, jedoch größer als Streptokokken der Gruppe A, grünlich Beta-Hämolyse
Staphylokokken	Groß, weiß bis grau bzw. cremefarben bis gelb, mit oder ohne Hämolyse
Corynebakterien	Klein bis groß, weiß bis grau bzw. gelb, mit oder ohne Hämolyse
<i>Listeria monocytogenes</i>	Klein bis mittelgroß, grünlich, schwache Beta-Hämolyse
<i>Enterobacteriaceae</i>	Mittelgroß bis groß, graue Kolonien, mit oder ohne Hämolyse
<i>Candida spp.</i>	Klein, weiß

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Das Medium eignet sich zur Isolierung und Kultivierung einer Vielzahl von aerob wachsenden Mikroorganismen, z.B. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* und weitere nicht-fermentierende gramnegative Stäbchen, Streptokokken, Staphylokokken, coryneforme Bakterien, *Candida*-Spezies, u.v.a.²⁻⁴

Columbia-Agar ergänzt mit Pferdeblut liefert eine klarer abgrenzbare Beta-Hämolyse von Streptokokken als Columbia-Agar mit Schafblut.²

Die in diagnostischen Lehrbüchern beschriebenen Hämolyse-Eigenschaften beziehen sich im Allgemeinen auf Schafblut. On horse

Auf Medien mit Pferdeblut, wie z.B. **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood**, können diese Eigenschaften verschieden sein (siehe **GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS**).

Kolonien von *Haemophilus haemolyticus*, einem Bestandteil der normalen Rachenflora, sind auf Pferde- und Kaninchenblut-Agar beta-hämolytisch und müssen von beta-hämolytischen Streptokokken-Kolonien mit Hilfe anderer Kriterien unterschieden werden. Die Verwendung von Schafblut wurde vorgeschlagen, um diesem Problem zu begegnen, da Schafblut einen Mangel an Pyridinnukleotiden aufweist und das Wachstum von *H. haemolyticus*, nicht unterstützt.⁵

Neisseria gonorrhoeae verzeichnet auf diesem Medium kein gutes Wachstum. Für die Isolierung dieser Spezies ist Schokoladenagar zu verwenden.

Das Medium ist außerdem für die Isolierung und das Wachstum von *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* und anderen Organismen mit hochspezifischen Nährstoffanforderungen nicht geeignet.

Es gibt eine hohe Anzahl und zahlreiche Arten bakterieller Spezies, die Infektionskrankheiten hervorrufen. Bevor das Medium routinemäßig für selten isolierte oder neu beschriebene Organismen verwendet wird, muss seine Eignung daher zunächst durch den Anwender anhand der Kultivierung von Reinkulturen des betreffenden Organismus getestet werden.

Obwohl bestimmte diagnostische Tests direkt auf diesem Medium durchgeführt werden können, sind für eine vollständige Identifizierung biochemische und, falls indiziert, immunologische Tests unter Verwendung von Reinkulturen erforderlich. Weitere Informationen sind der entsprechenden Fachliteratur zu entnehmen.^{4,5}

LITERATUR

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. Pfaller, 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. Lüttiken, 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. Finegold. 1994. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed.*, p. 415. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

Best.-Nr. 256006 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



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 the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD