

## BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II

### VERWENDUNGSZWECK

**BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** ist ein selektives Medium zur Isolierung von grampositiven Mikroorganismen aus einer Vielzahl klinischer und nicht klinischer Materialien.

### GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Ellner et al. berichteten 1966 über die Entwicklung einer neuen Blutagar-Rezeptur, die als Columbia Agar bezeichnet wurde.<sup>1</sup> Dieses Medium, das größere Kolonien und ein ausgeprägteres Wachstum erzielt als vergleichbare Blutagar-Medien, wird für Kulturmedien, die Blut enthalten, und für selektive Zusammensetzungen verwendet. Ellner et al. entdeckten, dass ein Medium mit 10 mg Colistin und 15 mg Nalidixinsäure je Liter in Columbia-Agar, angereichert mit 5 % Schafblut, das Wachstum von Staphylokokken, hämolytischen Streptokokken und Enterokokken unterstützt und gleichzeitig das Wachstum von *Proteus*-, *Klebsiella*- und *Pseudomonas*-Spezies hemmt.<sup>1-3</sup> Inzwischen hat die Resistenz der Bakterien gegen Antibiotika zugenommen. Das trifft besonders auf gramnegative Stäbchen zu, die auf Columbia CNA Agar mit 5% Schafblut gehemmt werden sollten, oft jedoch Wachstum zeigen. Um die hohe Selektivität dieses Mediums zu erhalten, wurde in BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved eine kleine Menge Aztreonam zugegeben. Aztreonam ist ein Monobactam, das nur gegen die meisten gramnegativen Bakterien wirkt, während grampositive Organismen nicht betroffen sind.<sup>4-6</sup> In **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** wurde die Nalidixinsäurekonzentration auf 5,5 mg/l reduziert, um die Isolierung grampositiver Kokken (insbesondere Staphylokokken) in klinischen Proben zu verbessern.

Columbia-Agar ist ein nährstoffreiches Basismedium. Durch den Zusatz der Antibiotika Colistin, Nalidixinsäure und Aztreonam ist das Medium selektiv für grampositive Mikroorganismen, insbesondere Streptokokken und Staphylokokken. Das Schafblut ermöglicht den Nachweis von hämolytischen Reaktionen, die insbesondere für die Verdachtsdiagnose von Streptokokken von Bedeutung sind.<sup>2,3,7-9</sup>

### REAGENZIEN

#### BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

Zusammensetzung\* pro Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	12.0 g	Agar	13.5 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	5.0	Colistin	10.0 mg
Hefeextrakt	3.0	Nalidixinsäure	5.5
Rindfleischextrakt	3.0	Aztreonam	3.0
Maisstärke	1.0	Defibriertes Schafblut	5%
Natriumchlorid	5.0	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

Das Medium mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). 18 – 24 Stunden bei 35 ± 2 °C in einer mit CO<sub>2</sub> angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren.

Stämme	Wachstum
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Gutes bis sehr gutes Wachstum; möglicherweise beta-hämolytisch.
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Gutes bis sehr gutes Wachstum; alpha-Hämolyse
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Gutes bis sehr gutes Wachstum; beta-Hämolyse
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Gutes bis sehr gutes Wachstum
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Rot (blutfarben)

## VERFAHREN

### Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

**BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (90 mm **Stacker**-Platten).

Mikrobiologisch kontrolliert.

### Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

### Probenarten

Dieses Medium ist ein selektives Universalmedium zur Isolierung zahlreicher aerob inkubierter grampositiver Bakterien, insbesondere Streptokokken und Staphylokokken, das für alle Arten von 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 aus diesem inokulierten Bereich ausstreichen. Um den Nachweis aller in der Probe enthaltenen Erreger zu gewährleisten, muss das Material gleichzeitig auf entsprechenden nicht selektiven Medien, z.B. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, und anderen selektiven Medien, z.B. **BD MacConkey II Agar**, ausgestrichen werden.<sup>7-10</sup>

**BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** 42 – 48 Stunden bei 35 ± 2 °C in einer mit CO<sub>2</sub> angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren. Platten nach 18 – 24 Stunden sowie nach 42 – 48 Stunden ablesen.

### Ergebnisse

Das typische Erscheinungsbild häufig auf **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** isolierter Organismen ist wie folgt:

Streptokokken (außer Gruppe D)	Klein, weiß bis grünlich Beta- oder alpha-Hämolyse
Enterokokken (Gruppe D)	Klein, jedoch größer als Streptokokken der Gruppe A, grünlich; alpha- (selten 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>Candida spp.</i>	Klein, weiß
<i>Listeria monocytogenes</i>	Klein bis mittelgroß, gräulich, schwache beta-Hämolyse
Gramnegative Bakterien	Kein Wachstum bis Spuren von Wachstum

\* Siehe auch **Grenzen des Verfahrens**

Andere, oben nicht erwähnte grampositive Bakterien können ebenfalls auf dem Medium wachsen (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

## LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

**BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** ist ein verbessertes Medium zur Isolierung und Kultivierung von zahlreichen aerob wachsenden grampositiven Mikroorganismen, z.B. Streptokokken, Staphylokokken, coryneforme Bakterien, *Listeria* spp, und andere. Es ist vergleichbar mit Columbia CNA Agar mit 5% Schafblut, hat aber eine bessere Selektivität gegen gramnegative Bakterien.

### Leistungsmerkmale<sup>11</sup>

In internen Leistungsevaluierungen wurden mehr als 45 Stämme (klinische Isolate und Sammelstämme) grampositiver Bakterien der in Tabelle 1 beschriebenen Spezies mit **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (= CNA-II) auf Wachstum getestet und mit **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** (= CNA) verglichen. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (= COL) wurde als Wachstums-Referenzmedium verwendet. Die Platten wurden 18–24 Stunden in einer mit CO<sub>2</sub> angereicherten aeroben Atmosphäre inkubiert.

Chinolon-resistente *Proteus*-Stämme wurden auf CNA-II vollständig gehemmt, zeigten aber auf CNA und COL starkes Wachstum. Eine Reihe weiterer gramnegativer Stäbchen (*Klebsiella pneumoniae*, die Breitspektrum-Beta-Lactamasen produzierten, *Enterobacter cloacae* und *Pseudomonas aeruginosa*) wurden getestet. All diese Stämme wuchsen auf CNA-II nicht, einige produzierten jedoch leichtes bis mittleres Wachstum auf CNA. Auf COL zeigten alle starkes Wachstum.

Auf CNA-II wurden mehr gramnegative Bakterien gehemmt als auf CNA, während die Isolierung der grampositiven Bakterien auf beiden selektiven Medien identisch oder auf CNA-II besser war als auf CNA.

Zusätzlich wurden verschiedene Stämme von *Staphylococcus aureus*, die auf CNA schwaches Wachstums zeigten, auf CNA-II getestet. Diese Stämme zeigten auf CNA-II akzeptables bis exzellentes Wachstum. Die Koloniegößen und Hämolysezonen auf CNA-II waren mit denen auf COL vergleichbar.

**Table 1:** Grampositive Species, die auf **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** getestet und nachgewiesen wurden (Inkubation: aerob mit 5 - 8% CO<sub>2</sub>)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus. milleri</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> **	<i>Streptococcus. mitis</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>Streptococcus group C</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus group F</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Streptococcus group G</i>
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> **	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

\* 48 h Bebrütung erforderlich zum Nachweis sowohl auf **CNA-II** als auch auf **CNA**

\*\* Diese Arten wachsen besser wenn sie anaerob bebrütet werden; anaerobe Bebrütung für 42 to 48 h erforderlich zum Nachweis auf **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** als auch auf **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**

Verschiedene anaerobe grampositive Kokken (*Peptostreptococcus* und verwandte Genera) wurden ebenfalls auf CNA-II getestet und mit CNA verglichen (anaerobe Bebrütung 42 bis 72 h). Während die meisten Stämme auf beiden Medien wuchsen, bildeten einige Stämme auf CNA-II schwächeres Wachstum als auf CNA.

## Grenzen des Verfahrens

Gramnegative Bakterien, die eine Resistenz gegen die selektiven Bestandteile aufweisen, können auf diesem Medium wachsen.

Das Wachstum von *Candida*-Spezies und anderen Pilzen wird auf diesem Medium nicht gehemmt.

Obwohl es sich hierbei um grampositive Bakterien handelt, wird das Wachstum aerober Sporenbildner wie beispielsweise *Bacillus* spp. auf **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** unter Umständen gehemmt.

Verschiedene Corynebakterien und Mikrokokken wachsen auf **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** schwach oder gar nicht.

Dieses Medium darf nicht zur Isolierung strikt anaerober Bakterien eingesetzt werden.

Stattdessen sollte **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** oder **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** dafür verwendet werden.

Es gibt eine große Zahl bakterieller Spezies, die Infektionskrankheiten hervorrufen. Bevor das Medium routinemäßig für selten isolierte und neu beschriebene Organismen verwendet wird, muss seine Eignung daher zunächst durch den Anwender mittels 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.<sup>7,9</sup>

Columbia-Agar weist einen relativ hohen Kohlenhydratanteil auf, wodurch beta-hämolytische Streptokokken eine grünliche hämolytische Reaktion hervorrufen können, die fälschlicherweise als alpha-Hämolyse interpretiert werden kann.

## 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. MacFaddin, J. F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 269-275. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
3. 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, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.*
4. Wood, W., G. Harvey, E.S. Olson, and T.M. Reid. 1993. Aztreonam selective agar for Gram positive bacteria. *J. Clin. Pathol.* 46: 769-771.
5. Wiedemann, B., and B. A. Atkinson. 1986. Susceptibility to antibiotics: species incidence and trends. *In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 962-1208. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.*
6. von Graevenitz, A. 1986. Use of antimicrobial agents as tools in epidemiology, identification, and selection of microorganisms. *In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 723-738. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.*
7. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. *Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.*
8. Ruoff, K.L., R.A. Whaley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. 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. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. *In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.*
11. Data on file. 2004. Becton Dickinson GmbH, Heidelberg/Germany.

## LIEFERBARE PRODUKTE

### BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II

<b>REF</b> 257303	Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten
<b>REF</b> 257306	Gebrauchsfertige Plattenmedien, 120 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. © 2011 BD