

BD Columbia Agar With 5% Horse Blood

TILSIGTET BRUG

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood er et kraftigt nærende, almindeligt medium til isolering og dyrkning af ikke-kræsne og kræsne mikroorganismer fra kliniske præparater.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

Ellner et al.¹ rapporterede i 1966 udviklingen af en ny blodagarformulering, som blev udpeget som Columbia agar. Columbia agar med 5% hesteblood afleder sine bedste vækstunderstøttende egenskaber fra kombinationen af to peptoner, samt gærekstrakt som en leverandør af B-komplekxvitaminer. Majsstivelse er inkluderet for at absorbere toksiske biprodukter indeholdt i præparatet og fungerer som en energikilde for organismer med alfa-amylaser. Hesteblood muliggør påvisning af hæmolytiske reaktioner og leverer både X-faktoren (heme) og V-faktoren (nikotinamidadenindinukleotid, NAD), som er nødvendige for vækst af mange bakterielle arter, inklusive *Haemophilus influenzae*, der kræver både X- og V-faktorerne. Columbia blodagar har et relativt højt kulhydratindhold, og beta-hæmolytiske streptokokker kan derfor producere en grønlig hæmolytisk reaktion, der fejlagtigt kan tages for alpha-hæmolyse. Denne grønne reaktion af streptokokker er dog mindre hyppigt observeret på Columbia agar suppleret med hesteblood end på det samme medium suppleret med fåreblod.² Det bør bemærkes, at beta-hæmolytiske reaktioner afhænger af typen af tilsat blod. Som et eksempel vil enterokokker, som kun yderst sjældent hæmolyserer fåreblod, producere en meget synlig beta-hæmolyse på hesteblood. *Staphylococcus aureus*, som normalt er beta-hæmolytisk på fåreblod, vil ofte være ikke-hæmolytisk på hesteblood.

Kolonier har tendens til at være større på dette medium, og vækst er mere frodig end på medier med andre blodagarbaser. Columbia blodagar anbefales som et primært isoleringsmedium i MiQ-standarderne.³ I mange europæiske lande er dette medium blevet det mest anvendte medium til primær isolering af kliniske præparater.

REAGENSER

BD Columbia agar med 5 % hesteblood

Formel* pr. liter oprenset vand

Pankreatisk fordøjelse af kasein	12,0 g
Peptisk fordøjelse af animalsk væv	5,0
Gærekstrakt	3,5
Okseekstrakt	3,0
Majsstivelse	1,0
Natriumchlorid	5,0
Agar	13,5
Hesteblood, defibrineret	5 %

pH 7,3 +/- 0,2.

*Justeret og/eller suppleret som påkrævet for at opfylde funktionskriterier.

FORHOLDSREGLER

IVD . Kun til professionel brug. 

Pladerne må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring, brud eller andre tegn på forringelse.

Læs dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for procedurer om aseptisk håndtering, biologisk risiko og bortskaffelse af det brugte produkt.

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Pladerne opbevares efter modtagelse i mørke ved 2 – 8 °C i deres originale hylsterindpakning, lige indtil de skal bruges. Undgå nedfrysning og overophedning. Pladerne kan inokuleres op til udløbsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalede inkubationstider. Plader fra åbnede stabler med 10 plader kan bruges i en uge, når de opbevares i et rent område ved 2 – 8 °C.

BRUGERKVALITETSKONTROL

Inokulér repræsentative prøver med de følgende stammer (se dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for at få detaljer). De inokulerede plader inkuberes ved 35 ± 2 °C i en aerob atmosfære suppleret med kuldioxid.

Pladerne undersøges efter 18 til 24 h for vækstmængde, kolonistørrelse og hæmolytiske reaktioner.

Stammer	Vækstresultater
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Vækst, beta-hæmolyse
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Vækst, alfa-hæmolyse
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Vækst, beta-hæmolyse
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Vækst; kan være beta-hæmolytisk
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Vækst
Ikke-inokuleret	Rød (blodfarve)

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BD Columbia agar med 5 % hesteblood (90 mm **Stacker** plader). Mikrobiologisk kontrolleret.

Materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpedyrkningsmedier, reagenser og laboratorieudstyr som påkrævet.

Præparattyper

Dette er et universelt isoleringsmedium, som kan anvendes til alle typer af aerobt inkuberede bakteriologiske præparater (se også **FUKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**).

Testprocedure

Udstryg præparatet så hurtigt som muligt efter modtagelse på laboratoriet. Udstrygningspladen anvendes primært til at isolere rene kulturer fra prøver, der indeholder blandet flora.

Hvis materialet dyrkes direkte fra en vatpind, kan vatpinden rulles over et lille område på overfladen ved kanten. Derefter udstryges for isolering fra dette inokulerede område. Passende selektive medier til påvisning af specifikke patogener, f.eks. **BD MacConkey II agar** til isoleringen af *Enterobacteriaceae* og andre gram-negative stave, bør inkluderes.

Da mange patogener kræver kuldioxid ved primær isolering, skal **BD Columbia agar med 5 % hesteblood** plader inkuberes i en aerob atmosfære, der indeholder ca. 3 til 10 % CO₂. Inkubér pladerne ved 35 ± 2 °C i 18-72 h. Aflæs første gang efter 18 til 24 h og inkubér om nødvendigt igen.

Resultater

Efter inkubation vil de fleste plader have et område med konfluent vækst. Fordi udstrykningsproceduren faktisk er en "fortyndings"-teknik, reduceres antallet af mikroorganismer aflejret på de udstrøgne områder. Som følge heraf bør ét eller flere af disse områder udvise isolerede kolonier med organismene indeholdt i præparatet. Yderligere kan vækst af hver organisme scores semikvantitativt på basis af vækst i hvert af de udstrøgne områder. Der henvises til relevant litteratur for information om udseendet på og yderligere differentiale test af de isolerede organismer.^{2,3}

Typisk kolonimorfologi af hyppigt isolerede organismer på **BD Columbia agar med 5 % hesteblood** er som følger:

Streptokokker (non-gruppe D)	Små, hvide til grålige. Beta- eller alfa-hæmolyse
Enterokokker (Gruppe D)	Små, men større end gruppe A streptokokker, grålige. Beta-hæmolyse
Stafylokokker	Store, hvide til grålige eller cremefarvede til gule, med eller uden hæmolyse
Korynebakterier	Små til store, hvide til grålige eller gule, med eller uden hæmolyse
<i>Listeria monocytogenes</i>	Små til mellemstore, grålige, med svag beta-hæmolyse
<i>Enterobacteriaceae</i>	Mellemstore til store, grå kolonier, med eller uden hæmolyse
<i>Candida</i> -arter	Små, hvide

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Mediet er egnet til isoleringen og dyrkningen af mange aerobt voksende mikroorganismer såsom *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* og andre nonfermenterende gram-negative stave, streptokokker, stafylokokker, koryneformer, *Candida*-arter og mange andre.²⁻⁴

Columbia agar suppleret med hesteblood forsyner klarere beta-hæmolyse af streptokokker end Columbia agar med fåreblod.²

Hæmolytiske egenskaber beskrevet i diagnostiske tekster henviser normalt til fåreblod. På medier,

som indeholder hesteblood, såsom på **BD Columbia agar med 5 % hesteblood**, kan disse karaktertræk være anderledes (se også **PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING**).

Kolonier af *Haemophilus haemolyticus*, som er en del af den normale svælgflora, er beta-hæmolytiske på heste- og kaningbloodagar og skal skelnes fra kolonier af beta-hæmolytiske streptokokker ved brug af andre kriterier. Brug af fåreblod er blevet foreslået for at undgå dette problem, da fåreblod mangler pyridinnukleotider og ikke understøtter vækst af *H. haemolyticus*.⁵ *Neisseria gonorrhoeae* vokser ikke godt på dette medium. Chokoladeagar bør i stedet for anvendes til restitution af disse arter.

Mediet egner sig heller ikke til isoleringen og væksten af *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* og andre organismer med meget specifikke næringskrav.

Antallet og typerne af bakterielle arter, som forekommer som smittefarlige stoffer, er meget store. Derfor bør mediets egnethed først testes ved at brugeren dyrker rene kulturer af den givne organisme, før det rutinemæssigt anvendes til sjældent isolerede eller nyligt beskrevne mikroorganismer.

Selvom visse diagnostiske test kan udføres direkte på dette medium, skal biokemisk og, hvis det angives, immunologisk testning med rene kulturer udføres for fuldstændig identifikation. Der henvises til relevant litteratur for yderligere information.^{4,5}

LITTERATUR

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. 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.

EMBALLERING/BESTILLING**BD Columbia Agar with 5% Horse Blood**

Kat. nr. 256006

Plademedier klar til brug, cpu 20

YDERLIGERE OPLYSNINGER

Kontakt den lokale BD repræsentant angående yderligere oplysninger.

**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