

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

TILSIGTET BRUG

BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II (BD Columbia CNA agar med 5% fåreblod, forbedret) er et selektivt medium, som anvendes til isolering af gram-positive mikroorganismer fra kliniske og non-kliniske materialer.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

Ellner et al. rapporterede i 1966 om udviklingen af en blodagarformulering, der er blevet udpeget som Columbia agar.¹ Dette medium, som opnår større kolonier og mere frodig vækst end på sammenlignelige blodagarbaser, anvendes til medier, der indeholder blod, og til selektive formuleringer. Ellner et al. fandt, at et medium, der består af 10 mg colistin og 15 mg nalidixinsyre pr. liter i en Columbia agarbase beriget med 5 % fåreblod, understøtter væksten af stafylokokker, hæmolytiske streptokokker og enterokokker og hæmmer samtidigt væksten af *Proteus*, *Klebsiella* og *Pseudomonas*-arter.¹⁻³ I løbet af årene er bakteriers resistens over for antimikrobielle stoffer steget. Dette er især sandt for gram-negative stave, som bør være hæmmede, men ofte producerer vækst på Columbia CNA agar med 5% fåreblod. For at bevare god selektivitet for dette medium er en lille mængde aztreonam inkluderet i BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved. Aztreonam er en monobactam udelukkende med aktivitet imod Gram-negative bakterier, mens Gram-positive organismer ikke er påvirkede.⁴⁻⁶ I **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II**, er koncentrationen af nalidixinsyre blevet reduceret til 5,5 mg/L for at forøge opsamlingen af Gram-positive cocci, specielt stafylokokker fra kliniske prøver.

Columbia agar yder et yderst næringsrigt basemedium. Tilsætningen af de antimikrobielle stoffer, colistin, nalidixinsyre og aztreonam, gør mediet selektivt for gram-positive mikroorganismer, især streptokokker og stafylokokker. Fåreblod tillader påvisning af hæmolytiske reaktioner, som især er vigtige ved formodentlig diagnose af streptokokker.^{2-3, 7-9}

REAGENSER

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

Formel* pr. liter oprenset vand

Pankreatisk fordøjelse af casein	12,0 g	Agar	13,5 g
Peptisk fordøjelse af animalsk væv	5,0	Colistin	10,0 mg
Gærekstrakt	3,0	Nalidixinsyre	5,5
Okseekstrakt	3,0	Aztreonam	3,0
Majsstivelse	1,0	Fåreblod, defibrineret	5 %
Natriumchlorid	5,0	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 mediet med stammerne angivet nedenfor. (Se dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for detaljer). Inkubér ved $35 \pm 2^\circ \text{C}$ i 18 til 24 h i en aerob atmosfære beriget med kuldioxid.

Stammer	Vækstresultater
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	God til fortrinlig vækst, kan være beta-hæmolytisk.
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	God til fortrinlig vækst, alfa-hæmolyse
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	God til fortrinlig vækst, beta-hæmolyse
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	God til fortrinlig vækst
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Hæmning fuldstændig
Ikke-inokuleret	Rød (blodfarve)

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II (90 mm **Stacker** plader). Mikrobiologisk kontrolleret.

Materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpedyrkningsmedier, reagenser og laboratorieudstyr som påkrævet.

Præparattyper

Dette er et universelt selektivt medium til isolering af mange gram-positive bakterier, især streptokokker og stafylokokker, i aerob bakteriologi, som kan anvendes til alle typer af bakteriologiske præparater (se også **FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**).

Testprocedure

Udstryg prøven så hurtigt som muligt efter modtagelse på laboratoriet. Udstrygningspladen anvendes primært til at isolere rene kulturer fra prøver, der indeholder blandet flora. Alternativt, hvis materialet dyrkes direkte fra en podedind, kan podedinden rulles over et lille område på overfladen ved kanten. Derefter udstryges der fra dette inokulerede område. For at yde påvisning af alle patogener indeholdt i præparatet skal det også udstryges på passende ikke-selektive medier, f.eks. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** og på andre selektive medier, f.eks. **BD MacConkey II agar**.⁷⁻¹⁰

Inkubér **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** ved $35 \pm 2^\circ \text{C}$ i 42 til 48 h i en aerob atmosfære beriget med kuldioxid, og aflæs pladerne efter 18 til 24 h og efter 42 til 48 h.

Resultater

Typisk kolonimorfologi på **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** 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. Alfa- (sjældent 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>Candida</i> -arter	Små, hvide
<i>Listeria monocytogenes</i>	Små til mellemstore, grålige, med svag beta-hæmolyse
Gram-negative bakterier	Ingen vækst til sporevækst

*Se Procedurens begrænsninger

Andre gram-positive bakterier, som ikke er angivet ovenfor, kan også vokse på mediet (se også **FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**).

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II er et forbedret medium til isoleringen og dyrkningen af mange aerobt voksende gram-positive mikroorganismer, f.eks. streptokokker, stafylokker, koryneformer, *Listeria*-arter og andre. Mediet er sammenligneligt med Columbia CNA agar med 5% fåreblod. Dets selektivitet over for gram-negative bakterier er dog bedre.

Funktionsdata ¹¹

I interne effektivitetsevalueringer er mere end 45 stammer (kliniske isolater og indsamlingsstammer) af Gram-positive bakterier, som tilhører arterne nævnt i tabel 1, blevet testet for vækst på **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (=CNA-II) og sammenlignet med **BD Columbia CNA agar with 5 % Sheep Blood** (=CNA). **BD Columbia agar med 5 % Sheep Blood** (=COL) blev anvendt som vækstreferencemedium. Plader blev inkuberet i en CO₂-beriget aerob atmosfære i 18 til 24 h.

Quinolon-resistente *Proteus*-stammer blev fuldstændigt hæmmet på CNA-II, men producerede kraftig vækst på CNA og COL. En mængde andre Gram-negative stammer (*Klebsiella pneumoniae*, som var producenter af beta-lactamaser med udvidet spektrum, *Enterobacter cloacae* og *Pseudomonas aeruginosa*) blev også testet. Ingen af disse stammer voksede på CNA-II, men nogen af dem producerede let til middelstor vækst på CNA, og alle producerede stærk vækst på COL.

På CNA-II var flere Gram-negative bakterier hæmmet end på CNA, mens isoleringen af Gram-positive bakterier var identisk på begge selektive medier eller bedre på CNA-II.

Adskillige stammer af *Staphylococcus aureus*, der fremviste svag vækst på CNA, blev endvidere testet på CNA-II. Disse stammer producerede alle acceptabel eller fremragende vækst på CNA-II. Kolonistørrelserne og hæmolytiske zoner på CNA-II var sammenlignelige med dem på COL.

Tabel 1: Gram-positive arter testet og restitueret på **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (inkubation: aerob med 5 til 8 % kuldioxid)

<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 gruppe C</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus gruppe F</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Streptococcus gruppe G</i>
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> **	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

* 48 h inkubation nødvendig for påvisning på **CNA-II** og på **CNA**.

** Disse er arter, som vokser bedre, når de vokses anaerobt; anaerob inkubation i 42 til 48 h nødvendig for påvisning på **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** og på **BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood**

En mængde anaerobe gram-positive kokker (*Peptostreptococcus* og tilknyttede slægter) blev også testet på CNA-II og sammenlignet med CNA (inkubation 42 til 72 h i en anaerob atmosfære). Mens de fleste af teststammerne voksede på begge medier, producerede flere teststammer lettere vækst på CNA-II end på CNA.

Procedurens begrænsninger

Gram-negative bakterier, som viser resistens over for de selektive ingredienser, kan vokse på dette medium.

Candida-arter og andre fungi hæmmes ikke på dette medium.

Selvom de er gram-positive bakterier, kan aerobe sporformer, såsom *Bacillus*-arter, hæmmes på **BD Columbia CNA agar with 5 % Sheep Blood** og **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II**.

Visse korynebakterier og mikrococci vil kun vokse svagt eller slet ikke på **BD Columbia CNA Agar med 5 % Sheep Blood, forbedret II**.

Dette medium må ikke anvendes til isolering af strengt anaerobe bakterier. I stedet for bør **BD Schaedler CNA agar with 5 % Sheep Blood** eller **BD Columbia CNA agar with 5 % Sheep Blood** anvendes til dette formål.

Antallet og typerne af de bakterielle arter, der forekommer som smittefarlige stoffer, er meget omfattende. Derfor bør dette medies egnethed først testes af brugeren ved at dyrke rene kulturer af den pågældende organisme inden rutinemæssig brug af mediet til sjældent isolerede eller nyligt beskrevne mikroorganismer.

Selvom visse diagnostiske test kan udføres direkte på dette medium, er biokemisk og, hvis det angives, immunologisk testning med rene kulturer nødvendige for at opnå fuldstændig identifikation.⁷⁻⁹

Columbia agarbase har et relativt højt kulhydratindhold, og betahæmolytiske streptokokker kan derfor producere en grønlig hæmolytisk reaktion, der fejlagtigt kan tages for alfa-hæmolyse.

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. 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. Tenenbaum (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th 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. Tenenbaum (ed.). 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Ruoff, K.L., R.A. Whitley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th 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. Tenenbaum (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Data i arkiv. 2004. Becton Dickinson GmbH, Heidelberg/Germany.

EMBALLERING/BESTILLING

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

REF	257303	Klar til brug plademedier, 20 plader
REF	257306	Klar til brug plademedier, 120 plader

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. © 2011 BD