



BD Columbia Agar With 5% Horse Blood

AVSEDD ANVÄNDNING

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood (Columbia-agar med 5 % hästblod) är ett mycket näringsrikt universalmedium för isolering och odling av lättodlade och svårodade mikroorganismer från kliniska prover.

PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV METODEN

Mikrobiologisk metod.

Ellner et al.¹ rapporterade 1966 om utvecklingen av en ny blodagarformulering, vilken har betecknats som Columbia-agar. Columbia-agar med 5 % hästblod får sina överlägsna växtstimulerande egenskaper från kombinationen av två peptoner och jästextrakt, vilken är en leverantör av B-vitaminkomplexet. Majsstärkelse inkluderas för att absorbera toxiska biprodukter som finns i provet samt för att fungera som energikälla för organismer som har alfaamylas. Hästblod tillåter detektion av hemolytiska reaktioner och tillför både X-faktor (järn) och V-faktor (nikotinamidadenindinukleotid, NAD), nödvändiga för tillväxten av många bakteriella species, inkluderande *Haemophilus influenzae*, vilken behöver både X- och V-faktorerna. Columbiaagarbas har ett relativt högt kolhydratinnehåll och, därför kan betahemolytiska streptokocker ge en grönaktig hemolytisk reaktion som kan förväxlas med alfahemolys. Emellertid, är denna grönaktiga hemolytiska reaktion ej lika frekvent observerad på Columbiaagar berikad med hästblod än på samma medium kompletterad med fårblod.² Det bör observeras att beta-hemolytiska reaktioner beror på den typ av blod som tillsatts; som ett exempel, enterokocker, vilka endast mycket sällan hemolyserar fårblod, kommer att producera klart synlig beta-hemolys på hästblod. *Staphylococcus aureus* vilken vanligtvis är beta-hemolytisk på fårblod, kommer ofta att vara icke-hemolytisk på hästblod.

På detta mediet, tenderar kolonierna att bli stora och växten är kraftigare än på media innehållande andra blodagarbaser. Columbia-blodagar rekommenderas som ett primärt isoleringsmedium i MiQ-standarderna.³ I många europeiska länder, har detta medium blivit det mest frekvent använda primära isoleringsmediet för kliniska prover.

REAGENSER

BD Columbia-agar med 5 % hästblod

Sammansättning* per liter aqua purif

Pankreatisk spjälkning av kasein	12,0 g
Peptisk digestion av djurvävnad	5,0
Jästextrakt	3,5
Nötextrakt	3,0
Majsstärkelse	1,0
Natriumklorid	5,0
Agar	13,5
Hästblod, defibrinerat	5 %

pH 7,3 +/- 0,2

*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

IVD . Endast för professionellt bruk. ☒

Plattorna får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller annan försämring.

Se skriften **ALLMÄN BRUKSANVISNING** för information om aseptiska förfaranden vid hantering, biorisker och bortskaffning av använd produkt.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara plattorna mörkt vid 2 till 8 °C i originalomslaget efter mottagandet fram till dess de skall användas. Överhettning och nedfrysning skall undvikas. Plattorna kan inokuleras fram till utgångsdatum (se etiketten på förpackningen) och inkuberas under rekommenderad inkubationsperiod.

Plattor från öppnade 10-plattförpackningar kan användas i en vecka vid förvaring i ren miljö vid 2 till 8°C.

KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

Inokulera representativa prover med följande stammar (för ytterligare information hänvisas till skriften **ALLMÄN BRUKSANVISNING**). Inkubera de inokulerade plattorna vid 35 ± 2 °C i en aerob miljö kompletterad med koldioxid.

Undersök plattorna efter 18 till 24 h avseende mängd av växt, kolonistorlek och hemolytiska reaktioner.

Stammar	Växtresultat
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Växt, beta-hemolys
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Växt, alfa-hemolys
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Växt, beta-hemolys
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Växt; kan vara beta-hemolytisk
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Växt
Ej inokulerad	Röd (blodfärg)

FÖRFARANDE

Tillhandahållt material

BD Columbia-agar med 5 % hästblod (90 mm **Stacker**-plattor). Mikrobiologiskt kontrollerade.

Material som ej medföljer

Extra odlingsmedier, reagenser och laboratorieutrustning efter behov.

Provtyper

Detta är ett allmänt utbredd isoleringsmedium och det kan användas för alla typer av aerobt inkuberade bakteriologiska prover (se också **KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR**).

Testförfarande

Stryk provet så snart som möjligt efter att det ankommit till laboratoriet. Den strukna plattan används primärt för isolering av renkulturer från prover med blandflora.

Vid odling direkt från provtagningspinne rullas istället pinnen över ett litet område nära kanten, varefter plattan stryks från det inokulerade området för isolering. Lämpligt selektivt media för detektion av specifika patogener, t.ex. **BD MacConkey II-agar** för isoleringen av *Enterobacteriaceae* och andra gramnegativa stavar, bör inkluderas.

Eftersom många patogener behöver koldioxid vid primär isolering, bör plattorna med **BD Columbia-agar med 5 % hästblod** inkuberas i en aerob miljö som innehåller ungefär 3 till 10 % CO₂. Inkubera plattorna vid 35 ± 2 °C under 18 till 72 h. Avläs första gången efter 18 till 24 h och återinkubera om det behövs.

Resultat

Efter inkubation kommer de flesta plattor att visa ett område med sammanhängande växt.

Eftersom strykningssproceduren egentligen är en "spädningsteknik" minskar antalet mikroorganismer som avsättes på de strykta områdena. Följaktligen bör en eller flera av dessa områden visa isolerade kolonier av organismerna som finns i provet. Vidare, kan växt av varje enskild organism räknas semikvantitativt på basen av växt i vart och ett av de strykta områdena. Se lämpliga referenser för utseendet och fortsatta differentierande tester av de isolerade organismerna.^{2,3}

Typisk kolonimorfologi av frekvent isolerade organismer på **BD Columbia-agar med 5 % hästblod** är som följer:

Streptokocker (icke-grupp D)	Små, vita till gråaktiga Beta- eller alfa-hemolys.
Enterokocker (grupp D)	Små, men större än streptokocker grupp A, gråaktiga Beta-hemolys
Stafylokocker	Stora, vita till grå eller krämfärgade till gula, med eller utan hemolys
Corynebakterier	Små till stora, vita till grå eller gula, med eller utan hemolys
<i>Listeria monocytogenes</i>	Små till mediumstora, gråaktiga, med svag betahemolys
<i>Enterobacteriaceae</i>	Mediumstora till stora, gråa kolonier, med eller utan hemolys
<i>Candida spp.</i>	Små, vita

KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR

Mediet lämpar sig för isoleringen och kultiveringen av många aerobt växande mikroorganismer, som t.ex. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* och andra icke-fermenterande gramnegativa stavar, streptokocker, stafylokocker, korynebakterier, *Candida species* och många andra.²⁻⁴

Columbia-agar kompletterad med hästblod tillhandahåller klarare beta-hemolys av streptokocker än Columbia-agar med fårblod.²

Hemolytiska egenskaper beskrivna i diagnostiska textböcker refererar vanligtvis till fårblod. På media innehållande hästblod,

kan dessa kännetecken vara annorlunda som t.ex. på blodinnehållande media som **BD Columbia-agar med 5 % hästblod**, (se också **PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV METODEN**).

Kolonier av *Haemophilus haemolyticus*, vilka är del av normalfloran, är beta-hemolytiska på häst- och kaninblodagar och måste skiljas från kolonier av beta-hemolytiska streptokocker genom användning av andra kriterier. Användningen av fårblod har föreslagits undanröja detta problem eftersom fårblod saknar pyridinnukleotider och inte stimulerar tillväxt av *H. haemolyticus*.⁵

Neisseria gonorrhoeae växer inte bra på detta medium. Istället bör chokladagar användas för återvinning av dessa species.

likaså, är mediet inte lämpligt för isoleringen och växten av *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* och andra organismer med höga specifika näringsbehov.

Antalet och typer av bakteriella species uppträdande som infektiösa agens är mycket stort. Följdaktligen måste mediets lämplighet först testas av användaren genom kultivering av rena kulturer innan mediet används rutinmässigt vid sällan isolerade eller nyligen beskrivna mikroorganismer.

Fastän vissa diagnostiska tester kan utföras direkt på detta mediet, är biokemisk och, om så angetts, immunologisk testning med rena kulturer nödvändig för fullständig identifikation. Se lämpliga referenser för ytterligare information.^{4,5}

REFERENSER

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

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

Kat.nr 256006

Färdiga odlingsplattor, 20 st. per förpackning

YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.



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