



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

AVSEDD ANVÄNDNING

BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II (BD Columbia CNA-agar med 5 % fårblod, förbättrad) är ett selektivt medium som används för isoleringen av grampositiva mikroorganismer från kliniska och icke-kliniska material.

PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV METODEN

Mikrobiologisk metod.

Ellner et al. rapporterade 1966 om utvecklingen av en blodagarformulering, vilken har betecknats Columbiaagar.¹ Detta medium, som åstadkommer stora kolonier och mer kraftig växt än andra jämförbara blodagarbaser, används för media innehållande blod och för selektiva formuleringar. Ellner et al. fann att ett medium innehållande 10 mg kolistin och 15 mg nalidixinsyra per liter i en Columbiaagarbas, berikad med 5 % fårblod, stimulerar växt av stafylokocker, hemolytiska streptokocker och enterokocker medan växt av *Proteus*, *Klebsiella* och *Pseudomonas* species inhiberas.¹⁻³ Under årens lopp har bakteriernas resistens för antimikrobiotiska medel ökat. Detta är speciellt sant för gramnegativa stavar som bör hämmas, men ofta producerar växt på Columbia CNA-agar med 5 % fårblod.

För att bibehålla en god selektivitet på detta medium har en liten mängd aztreonam inkluderats i BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved. Aztreonam är en monobaktam som endast har aktivitet mot de flesta gramnegativa bakterierna, medan grampositiva organismer inte påverkas.⁴⁻⁶ I **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** har koncentrationen av nalidixinsyra minskats till 5,5 mg/l för att öka detektionen av grampositiva kocker, särskilt stafylokocker, från kliniska prov.

Columbiaagar tillhandahåller ett mycket näringsrikt basmedium. Förutom de antimikrobiotiska medlen, gör kolistin, nalidixinsyra och aztreonam mediet selektivt för grampositiva mikroorganismer, speciellt streptokocker och stafylokocker. Fårblod tillåter detektion av hemolytiska reaktioner, vilka är speciellt viktiga vid den förmodade diagnosen av streptokocker.^{2,3,7-9}

REAGENSER

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

Sammansättning* per liter aqua purif.:

Pankreatisk spjälkning av kasein	12,0 g	Agar	13,5 g
Peptisk digestion av djurvävnad	5,0	Colistin	10,0 mg
Jästextrakt	3,0	Nalidixinsyra	5,5
Nötextrakt	3,0	Aztreonam	3,0
Majsstärkelse	1,0	Fårblod, defibrinerat	5 %
Natriumklorid	5,0	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 mediet med stammarna antecknade nedan. (för detaljer, se dokumentet **ALLMÄNNA INSTRUKTIONER FÖR ANVÄNDNING**). Inkubera vid 35 ± 2 °C under 18 till 24 h, i en aerob miljö anrikad med koldioxid.

Stammar	Växtresultat
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	God till utmärkt växt, kan vara betahemolytisk
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	God till utmärkt växt, alfa-hemolys
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	God till utmärkt växt, betahemolys
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	God till utmärkt växt
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Fullständig inhibition
Ej inokulerad	Röd (blodfärg)

FÖRFARANDE

Tillhandahållt material

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

Mikrobiologiskt kontrollerade.

Material som ej medföljer

Extra odlingsmedier, reagenser och laboratorieutrustning efter behov.

Provtyper

Detta är ett allmänt utbredd isoleringsmedium av många grampositiva bakterier, speciellt streptokocker och stafylokocker, i aerob bakteriologi och det kan användas för alla typer av 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 ytområde nära kanten varefter plattan stryks från det inokulerade området. För detektion av samtliga patogener i provet måste provet även strykas på lämpliga icke-selektiva medier, t.ex. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** samt på andra selektiva medier, t.ex. **BD MacConkey II-agar**.⁷⁻¹⁰

Inkubera **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** vid 35 ± 2 °C under 42 till 48 h, i en aerob miljö anrikad med koldioxid, och läs plattorna efter 18 till 24 respektive efter 42 till 48 h.

Resultat

Typisk kolonimorfologi på **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** 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 Alfa- (sällan 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>Candida spp.</i>	Små, vita
<i>Listeria monocytogenes</i>	Små till mediumstora, gråaktiga, med svag betahemolys
Gramnegativa bakterier	Ingen växt till spår av växt

*Se **Procedures** begränsningar

Andra grampositiva bakterier, ej antecknade ovan, kan också växa på mediet (se också **KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR**).

KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR

BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II är ett förbättrat medium för isoleringen och kultiveringen av många aerobt växande grampositiva mikroorganismer, t.ex. streptokocker, stafylokocker, koryneforma, *Listeria* spp. och andra. Mediet är jämförbart med Columbia CNA-agar med 5 % fårblod, emellertid är dess selektivitet mot gramnegativa bakterier bättre.

Kliniska prestanda¹¹

Vid interna prestandautvärderingar har mer än 45 stammar (kliniska isolat och provtagningsstammar) med grampositiva bakterier tillhörande species nämnda i tabell 1 testats för växt på **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (=CNA-II) och jämförts med **BD Columbia CNA-agar med 5 % fårblod** (=CNA). **BD Columbia CNA-agar with 5 % Sheep Blood** (=COL) användes som ett växtreferensmedium. Plattorna inkuberades med en CO₂-anrikad aerob miljö under 18 till 24 timmar.

Kinolon-resistenta *Proteus*-stammar inhiberades fullständigt på CNA-II men gav stor växt på CNA och COL. Likaså testades flera andra gramnegativa stavar (*Klebsiella pneumoniae*, vilka var producerare av betalaktamas med utökat spektrum, *Enterobacter cloacae* och *Pseudomonas aeruginosa*). Det var inte alla av dessa stammar som växte på CNA-II men vissa producerade lätt till medelstor växt på CNA, och alla producerade kraftig växt på COL. Fler gramnegativa bakterier inhiberades på CNA-II än på CNA, medan isoleringen av grampositiva bakterier var identisk på båda selektiva media eller bättre på CNA-II. Flera stammar av *Staphylococcus aureus* som visade svag växt på CNA testades på CNA-II. Samtliga av dessa stammar uppvisade acceptabel till utmärkt växt på CNA-II. Kolonistorlekar och hemolytiska zoner på CNA-II var jämförbara med resultaten på COL.

Tabell 1: Grampositiva species testades och återvanns på **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (inkubation: aerob med 5 till 8 % koldioxid)

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

* 48 h inkubation krävs för detektion på **CNA-II** och på **CNA**.

** Dessa är species som växer bättre när de växer anaerobt; anaerob inkubation under 42 till 48 h krävs för detektion på **BD Columbia CNA-agar med 5 % fårblod, förbättrad II** och på **BD Columbia CNA-agar med 5 % fårblod**

En mångfald olika anaeroba grampositiva kocker (*Peptostreptococcus* och relaterade arter) testades också på CNA-II och jämfördes med CNA (inkubation 42 till 72 h, i en anaerob miljö). Medan de flesta av teststammarna växte på båda media, producerade många teststammar svagare växt på CNA-II än på CNA.

Procedures begränsningar

Gramnegativa bakterier, som visar resistens för de selektiva beståndsdelarna, kan växa på detta mediet.

Candida species och andra svampar inhiberas inte på detta mediet.

Fastän de är grampositiva bakterier, aeroba sporbildare såsom *Bacillus* spp., kan de inhiberas på **BD Columbia CNA-agar with 5 % shepp blood** och på **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II**.

Vissa corynebakterier och mikrokocker växer endast svagt eller inte alls på **BD Columbia CNA-agar with 5 % fårblod, Improved II**.

Detta medium får inte användas för isolering av strikt anaeroba bakterier. Istället bör **BD Schaedler CNA-agar with 5 % Sheep Blood** eller **BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood** användas för detta syfte.

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 och 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.⁷⁻⁹

Columbiaagarbas har ett relativt högt kolhydratinnehåll och, därför kan betahemolytiska streptokocker ge en grönaktig hemolytisk reaktion som kan förväxlas med alfa-hemolys.

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. 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. Wiley, 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 på fil. 2004. Becton Dickinson GmbH, Heidelberg/Germany.

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

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

REF	257303	Färdiga odlingsplattor, 20 plattor
REF	257306	Färdiga odlingsplattor, 120 plattor

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. © 2011 BD