



BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood

PRZEZNACZENIE

BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood stanowi wieloskładnikową, uniwersalną pożywkę służącą do izolacji i hodowli niewymagających i wymagających drobnoustrojów, pochodzących z próbek klinicznych.

ZASADY I OBJAŚNIENIE POSTĘPOWANIA

Metoda mikrobiologiczna.

W 1966 roku Ellner i in.¹ donieśli o opracowaniu nowego preparatu agaru z krwią, który nazwano Agarem Columbia. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** czerpie swoje właściwości podtrzymywania wzrostu z połączenia dwóch peptonów i wyciągu z drożdży jako źródła witamin grupy B. Pożywka zawiera skrobię kukurydzianą, która służy do absorbowania toksycznych produktów ubocznych znajdujących się w próbce i stanowi źródło energii dla organizmów wytwarzających alfa-amylazy. Krew barania pozwala na wykrycie reakcji hemolizy i dostarcza czynnika X (hemu), który jest niezbędny do wzrostu wielu patogenów.

Na tej pożywce kolonie mają tendencję do rozwoju a wzrost jest obfitszy niż na innych pożywkach zawierających podłoża agaru z krwią. Agar Columbia z krwią zalecany jest jako podstawowa pożywka izolacyjna w standardach MiQ oraz w innych podręcznikach diagnostycznych.^{2,3} W wielu krajach europejskich pożywka ta stała się najczęściej używaną pożywką izolacyjną do próbek klinicznych.

ODCZYNNIKI

BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood

Formuła* na litr wody oczyszczonej

Kazeina strawiona wyciągiem trzustkowym	12,0 g
Tkanka zwierzęca strawiona pepsyną	5,0
Wyciąg z drożdży	3,0
Wyciąg bydłęcy	3,0
Skrobia kukurydziana	1,0
Chlorek sodu	5,0
Agar	13,5
Krew barania, bez włókna	5 %

pH 7,3 ± 0,2

*W razie potrzeby dostosowywana i/lub uzupełniana by spełniać kryteria eksploatacyjne.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Do użytku tylko przez wykwalifikowany personel. ⓧ

Nie używać płytek w przypadku obecności śladów zanieczyszczenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wysuszenia, spękania lub innych oznak wskazujących pogorszenie się ich stanu. Należy zapoznać się z **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA** – dokumentem dotyczącym postępowania zgodnego z zasadami aseptyki, zagrożeniami biologicznym i usuwaniem użytego wyrobu.

PRZECHOWYWANIE I DOPUSZCZALNY OKRES PRZECHOWYWANIA

Po otrzymaniu, płytki należy przechowywać w ciemnym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C, w ich oryginalnym opakowaniu izolującym do chwili użycia. Unikać zamrażania i przegrzewania. Posiewu na płytki można dokonywać aż do daty ważności (patrz etykieta na opakowaniu) i inkubować w zalecanych czasach inkubacji.

Płytek z otwartych stosów zawierających po 10 płytek można używać przez okres jednego tygodnia, przechowując w czystym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Na płytki posiewa się próbki reprezentatywne następujących szczepów (szczegółowe informacje – patrz dokument **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**). Płytki z posianymi szczepami inkubuje się w temperaturze $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ w atmosferze tlenu wzbogaconego dwutlenkiem węgla. Płytki należy badać po 18 do 24 godz. oceniając stopień wzrostu, wielkość kolonii i reakcję hemolizy.

Szczepy	Wyniki oceny wzrostu
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC™ 19615	Wzrost: wyraźny do pełnego, beta hemoliza: słaba do wyraźnej
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Wzrost: wyraźny do pełnego, beta hemoliza: słaba do wyraźnej, alfa hemoliza
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Wzrost: wyraźny do pełnego, beta hemoliza: występuje lub nie
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Wzrost: wyraźny do pełnego, beta hemoliza: występuje lub nie
Nie posiane	Czerwone (krwista barwa)

POSTĘPOWANIE

Dostarczane materiały

BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (płytki **Stacker** o śr. 90 mm). Sprawdzone mikrobiologicznie.

Materiały nie dostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki i sprzęt laboratoryjny, tak jak wymieniono.

Typy próbek

Jest to uniwersalna pożywka izolacyjna i można jej używać do wszystkich typów próbek klinicznych inkubowanych w warunkach tlenowych (patrz także **CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY**).

Procedura testu

Próbki posiać pasmowo wkrótce po przyjęciu do laboratorium. Posiew pasmowy na płytkach stosuje się głównie do izolacji czystych hodowli z próbek zawierających florę mieszaną. Opcjonalnie, jeśli materiał jest posiewany bezpośrednio z wymazu, wymaz obrócić nad niewielkim obszarem powierzchni na krawędzi, następnie posiać pasmowo w celu izolacji z tego posianego obszaru. W celu wykrywania swoistych patogenów należy włączyć odpowiednie pożywki wybiórcze, np. **BD MacConkey II Agar** do izolacji *Enterobacteriaceae*.

Płytki z **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** należy inkubować w atmosferze tlenowej zawierającej od około 3 do 10% CO₂, gdyż wiele patogenów wymaga dwutlenku węgla przy pierwszej izolacji. Płytki inkubować w temperaturze $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ przez okres od 18 do 72 godz. Pierwszego odczytu dokonać po 18 do 24 godz i w razie potrzeby inkubować ponownie.

Wyniki

Po inkubacji na większości płytek pojawiają się obszary zlewania się wzrostu. W miejscach posiewu pasmowego drobnoustroje występują w zmniejszonej ilości, ponieważ procedura posiewu pasmowego w rzeczywistości stanowi technikę „rozcieńczeniową”. Wskutek tego, kilka miejsc powinno wykazywać wyizolowane kolonie drobnoustrojów zawartych w próbce. Wzrost wszystkich drobnoustrojów można dalej oceniać pół-ilościowo na podstawie wzrostu w każdym posianym pasmowo obszarze.

Ilość szczepów rosnących na tej pożywce jest bardzo duża. Z tego względu nie można podać tu wszechstronnych informacji odnośnie wyglądu kolonii na tej pożywce. W celu uzyskania

informacji odnośnie wyglądu kolonii i kolejnych testów różnicujących izolowane organizmy należy zapoznać się z odpowiednim piśmiennictwem.²⁻⁷

Typowa morfologia kolonii często izolowanych drobnoustrojów na **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** jest następująca:

Streptokoki (grupa nie D)	Drobne, białe do szarawych. Hemoliza beta lub alfa.
Enterokoki (grupa D)	Drobne lecz większe niż streptokoki grupy A, szarawe. Hemoliza alfa (rzadko beta).
Staphylokokki	Rozległe, od białych do szarych lub od kremowych do żółtych, z hemolizą lub bez hemolizy.
Corynebacteria	Drobne do rozległych, od białych do szarych lub żółtych, z hemolizą lub bez hemolizy.
<i>Listeria monocytogenes</i>	Drobne do średnich, szarawe, ze słabą beta hemolizą.
<i>Enterobacteriaceae</i>	Średnie do rozległych, szare kolonie, z hemolizą lub bez hemolizy.
<i>Candida spp.</i>	Drobne, białe.

CHARAKTERYSTYKA EKSPLOATACYJNA I OGRANICZENIA PROCEDURY

BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood baranią stanowi podstawową pożywkę izolacyjną, na której będzie rosnać większość drobnoustrojów takich jak: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* i inne niefermentujące pałeczki Gram ujemne, streptokoki, enterokoki, staphylokokki, corynebakterie, rodzaj *Candida* i wiele innych.^{2,5,6}

Pożywka nie zawiera czynnika V (dwunukleotydu nikotynamidoadeninowego, NAD), gdyż we krwi baraniej znajduje się NADaza, która niszczy NAD. Z tego względu *Haemophilus influenzae*, która wymaga zarówno czynnika X, jak i V nie będzie rosła na tej pożywce.

Neisseria gonorrhoeae nie rośnie dobrze na tej pożywce. W zamian do regeneracji należy używać **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalX)**.

Pożywka ta nie nadaje się także do izolacji i wzrostu *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* i innych organizmów o wysoce specyficznych wymogach odżywczych.

Ilość i rodzaje gatunków bakterii występujących jako czynniki zakaźne są bardzo liczne. Dlatego też zanim pożywka będzie rutynowo używana do rzadko izolowanych lub nowo odkrytych drobnoustrojów, użytkownik musi sprawdzić najpierw jej przydatność posiewając czyste hodowle wspomnianych organizmów.

Ze względu na raczej wysoką zawartość węglowodanów (skrobia) podstawy agaru Columbia, streptokoki beta-hemolizujące mogą wykazywać raczej odczyny alfa-hemolizy niż beta-hemolizy lub mogą wykazywać słabe odczyny hemolityczne na pożywce, której podstawę stanowi niniejsza formuła.

Chociaż niektóre testy diagnostyczne można wykonywać bezpośrednio na tej pożywce, to w celu przeprowadzenia pełnej identyfikacji zaleca się wykonanie badania biochemicznego oraz jeśli to jest wskazane badania immunologicznego z użyciem czystych hodowli. W celu uzyskania dalszych informacji należy zapoznać się z odpowiednim piśmiennictwem.^{3,5,6}

PIŚMIENNICTWO

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. MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, edited by Mauch, H., R. Lüttiken, and S. Gattermann for the Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Volumes 3, 6, and 7. Urban & Fischer, Munich, Germany.
3. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media. 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.

5. 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.
6. 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.
7. MacFaddin, J. F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 86-92. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

OPAKOWANIE/DOSTĘPNOŚĆ

BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood

Nr kat. No. 254005 Gotowa do użycia pożywka płytkowa, cpu
20

Nr kat. No. 254071 Gotowa do użycia pożywka płytkowa, cpu
120

DALSZE INFORMACJE

W celu uzyskania szczegółowych informacji prosimy skontaktować się z miejscowym przedstawicielem firmy BD.



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