

Columbia Agar Base EP/USP/ISO

-LC1104

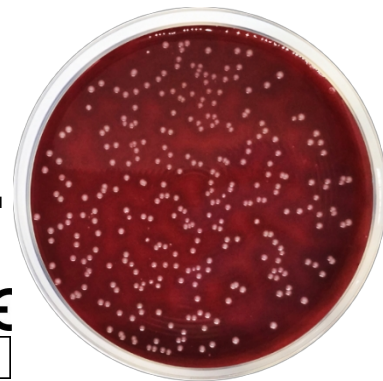
Pro izolaci a kultivaci náročných mikroorganismů a stanovení hemolytických reakcí.

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Růst	<i>Campylobacter</i>
Selektivní izolace	Náročné mikroorganismy
Detekce	Hemolytické reakce

Updatnění: Farmacie / Veterinární lékařství / Klinická medicína / Potravinářství / Kontrola kvality finálních výrobků

Předpisy: USP / ISO 10272 / ISO 11133 / Evropský lékopis



Principy a použití

Columbia Agar Base je vysoce výživné univerzální médium pro kultivaci náročných mikroorganismů, zejména pokud se používá jako základ pro Čokoládový agar. Lze jej také použít jako selektivní izolační médium přidáním antimikrobiálních látek. Je vhodné pro izolaci a kultivaci široké škály mikroorganismů s obtížnými růstovými vlastnostmi. Přidáním krve jej lze použít ke stanovení hemolytických reakcí. Většina běžných patogenních bakterií však dobře roste i bez přídavku krve.

Pankreatický digestát kaseinu, peptický digestát masa a pankreatický digestát srdce poskytují dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Kvasnicový extrakt a kukuřičný škrob jsou zdrojem vitamínů, zejména vitamínů skupiny B, které jsou nezbytné pro bakteriální růst. Chlorid sodný dodává esenciální elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu. Bakteriologický agar slouží jako ztužující látka. Krev je dalším zdrojem růstových faktorů pro mikroorganismy a je základem pro stanovení hemolytických reakcí. Hemolytické vzory se mohou lišit podle typu použité krve nebo základního média. Například defibrinovaná ovčí krev poskytuje nejlepší výsledky pro streptokoky skupiny A.

Pro zvýšení selektivity média lze v případě potřeby přidat následující doplňky:

CNA Staph/Streph Supplement (LC6016) pro izolaci stafylokoků, streptokoků a pneumokoků.

doplňěk Brucella (LC6017) pro izolaci *Brucella*.

Evropský lékopis USP doporučuje v odstavci 2.6.13 "Mikrobiologické testování nesterilních výrobků: zkouška na přítomnost specifikovaných mikroorganismů" pro testování klostridií ve výrobcích Agar Columbia.

Norma ISO 10272 uvádí, že Columbia Agar Base s krví lze použít k umožnění vývoje dobře izolovaných kolonií, aby bylo možné tyto kolonie použít v konfirmačních testech.

Po přidání 5-10 % sterilní defibrinované krve a zejména s doplňkem Polyenrichment Supplement (LC6011) a VCN Supplement (LC6013) se Columbia Agar Base stává vynikajícím čokoládovým agarem, který lze použít k izolaci patogenních neisserií, gonokoků a meningokoků stejně dobře nebo lépe než Thayer-Martinovo médium. V závislosti na výběru inhibitorů mohou být alternativními doplňky k VCN VCNT (LC6026) nebo VCAT (LC6014).

Složení v g/l

Bakteriologický agar	13,5	Kukuřičný škrob	1
Pankreatický digest kaseinu	10	Chlorid sodný	5
Kvasničný extrakt	5	Masový pepton	5
Srdce pankreatický trávení	3		

Typické složení v g/l * Upraveno a/nebo doplněno podle potřeby tak, aby splňovalo kritéria účinnosti.

Příprava

Suspendujte 42,5 g média v jednom litru destilované vody. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Sterilizujte v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Médium se obvykle obohacuje sterilní defibrinovanou krví (ovčí, králičí nebo koňskou), sérem nebo jiným materiálem. Ochlaďte na 44-47 °C a asepticky přidejte 5-10 % sterilní defibrinované krve, jemně homogenizujte a nalijte do Petriho misky. Dávejte pozor, aby se při přidávání krve netvořily bubliny.

Návod k použití

" Pro klinickou diagnózu:

- Používá se s 5-10 % krve.
- Typ vzorku: Krev.
- Inokulujte a inkubujte při teplotě 35 ± 2 °C po dobu 18-72 hodin.
- Čtení a interpretace výsledků.

Typy hemolýzy:

1. Alfa-hemolýza: nazelenalé zbarvení média.
2. Beta-hemolýza: jasná zóna kolem kolonie.
3. Gama hemolýza: beze změny.

" Pro jiná použití, na která se nevztahuje označení CE:

Test specifikovaných mikroorganismů (klostridií) podle Evropského lékopisu:

- Používá se bez krve.
- Inokulujte a inkubujte za anaerobních podmínek zesílené klostridiové médium (LC1007) při teplotě 30-35 °C po dobu 48 hodin.
- Vytvořte subkultury na Columbia Agar (LC1104).
- V případě potřeby přidejte 20 mg/l gentamicinu.
- Inokulujte a inkubujte za anaerobních podmínek při teplotě 30-35 °C po dobu 48 hodin.
- Kolonie vypěstované v anaerobióze, které jsou negativní na katalázu, ukazují na přítomnost klostridií. Tento výsledek musí být potvrzen biochemickými testy.

Detekce a stanovení počtu *Campylobacter spp.* podle ISO 10272:

- Používá se s 5 % krve.
- Z charakteristických kolonií *Campylobacter* Agar CCDA (LC1129 + LC6053) naočkejte a inkubujte na Columbia Agar (LC1104) při 41,5 °C po dobu 24-48 hodin v mikroaerobní atmosféře.
- Proveďte konfirmační testy.

Kontrola kvality

Rozpustnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
bez zbytků	Jemný prášek	Béžová	Třešňově červená neprůhledná	7,3±0,2

Mikrobiologický test

Podle Evropského lékopisu; *Clostridium sporogenes*:

Inkubační podmínky: (30-35 °C, anaerobní podmínky / 48-72 h). Podmínky inokulace: (≤ 100 CFU).

Podle ISO 10272; *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*:

Inkubační podmínky: ($41,5 \pm 1$ °C, mikroaerobní prostředí / 24-48 h). Inokulační podmínky: (10^3 - 10^4 CFU).

Referenční média: Referenční médium: již validované médium batch Blood Agar.

Ostatní kmeny: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*:

Inkubační podmínky: (35 ± 2 °C, 5-10% atmosféra CO₂ / 48 h).

Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	Dobry růst	
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Dobry růst	
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Dobry růst	Beta hemolýza
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Dobry růst	Beta/Gama hemolýza
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 29428	Dobry růst	
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 33291	Dobry růst	
<i>Campylobacter coli</i> ATCC 43478	Dobry růst	
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Dobry růst	

Skladování

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

Ellner, Stossel, Drakeford a Vasi. AM J. Clin. Path. 45:502-504. 1966.

Evropský lékopis.

ISO 10272-1: Mikrobiologie potravinového řetězce Horizontální metoda detekce a stanovení počtu *Campylobacter* spp. Část 1: Metoda detekce

ISO 10272-2: Mikrobiologie potravinového řetězce Horizontální metoda detekce a stanovení počtu *Campylobacter* spp. Část 2: Technika počítání kolonií