



COLUMBIA BLOOD AGAR

Paruošti naudoti plokštelės



Columbia Blood Agar
A grupės β -hemolitiniai streptokokai

1 - NAUDOJIMO PASKIRTIS

In vitro diagnostikos prietaisas. Neselektyvi, universali terpė, skirta izoliuoti, kultivuoti ir nustatyti hemolitinį modelį išrankiesiems ir neišrankiesiems mikroorganizmams iš klinikinių mėginių ir kitų medžiagų.

2 – SUDĖTIS – TIPINĖ FORMULĖ *

Peptocomplex	10 g
Tryptose	10 g
Peptone	3 g
Maize starch	1 g
Sodium chloride	5 g
Agar	12 g
Defibrinated sheep blood	50 mL
Purified water	1000 mL

* Formulė gali būti koreguojama ir (arba) papildoma, kad atitiktų reikiamus veikimo kriterijus.

3 – METODO PRINCIPAS IR PROCEDŪROS PAAIŠKINIMAS

Kolumbijos kraujo agarą pirmą kartą 1966 m. aprašė Ellner, Stoessel, Drakeford ir Vasi¹ iš Kolumbijos universiteto, kurie vienoje terpėje sujungė mėsos ir kazeino peptonus bei defibrinuotą avių kraują. Po 2 metų bandymų ši terpė parodė žymiai pagerėjusias augimą skatinančias savybes ir buvo nustatyta, kad ji yra pranašesnė už anksčiau β ir α hemolitinių organizmų atskyrimui naudotą kraujo agarą.¹ Kolumbijos kraujo agaras yra neselektyvi, bendrosios paskirties terpė su defibrinuotu avių krauju, skirta izoliuoti, kultivuoti ir nustatyti hemolitinį modelį nepretenzingų ir pretenzingų mikroorganizmų, tokių kaip *Corynebacterium* spp., *Actinomyces* spp., *S. pneumoniae*, *Staphylococcus*, *C. jejuni* iš klinikinių mėginių^{2,3}. Columbia Blood Agar rekomenduojamas kolonijų gryninimui ir patvirtinimo tyrimui, inkubuojant 25 °C aerobinėmis sąlygomis, pagal ISO 10272 metodus, skirtus *Campylobacter* spp. izoliavimui ir skaičiavimui maisto produktuose.⁴

Peptonai teikia anglį, azotą ir mikroelementus bakterijų augimui, natrio chloridas palaiko osmosinę pusiausvyrą, kukurūzų krakmolai įtrauktas siekiant absorbuoti mėginyje esančius toksinius šalutinius produktus ir yra energijos šaltinis bakterijų augimui. Avies kraujo buvimas leidžia nustatyti hemolizinį modelį, kuris yra naudinga priemonė bakterijų identifikavimui.

4 - FIZINĖS SAVYBĖS

Terpės išvaizda raudona, nepermatoma
Galutinis pH 20–25 °C temperatūroje 7.3 ± 0.1

5 - PATEIKTOS MEDŽIAGOS - PAKUOTĖ

Produktas	Tipas	REF	Pakuotė
Columbia Blood Agar	Paruošti naudoti plokštelės	541136	2 x 10 plokštelių \varnothing 90 mm pirminė pakuotė: 2 celofano maišeliai antrinė pakuotė: kartoninė dėžutė

6 - REIKALINGOS, BET NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

Sterilūs kilpos ir tamponai, inkubatorius ir laboratorinė įranga pagal poreikį, kontroliuojamos atmosferos generatoriai ir stiklainiai, pagalbinės auginimo terpės ir reagentai kolonijų identifikavimui.

7 – MĖGINIAI

Columbia Blood Agar plokštelės gali būti tiesiogiai inokuliuojamos daugeliu klinikinių mėginių (pvz., skreplių, nosies, gerklės, žaizdų, šlapimo ir kt.). Mėginių tipai, susiję su konkrečiomis infekcijomis, nurodyti cituojamoje literatūroje.⁵⁻⁷ Columbia Blood Agar netinka tiesioginiam kraujo mėginių inokulavimui. Jei įmanoma, mėginius surinkite prieš antimikrobinį gydymą. Reikia laikytis geros laboratorinės praktikos klinikinių mėginių surinkimo, transportavimo ir laikymo srityje; daugiau informacijos rasite atitinkamuose šaltiniuose.⁵ Dėl maisto mikrobiologinio tyrimo kreipkitės į ISO standartą.⁴

8 – TYRIMO PROCEDŪRA

Leiskite plokštelėms pasiekti kambario temperatūrą ir išdžiūti terpės paviršiui.

Inokuliuokite ir išstepkite mėginį kilpa per keturis plokštelės ketvirčius, kad gautumėte gerai izoliuotas kolonijas, užtikrindami, kad 1 ir 4 sekundijos nesutaptų. Arba, jei medžiaga yra kultivuojama tiesiogiai iš tampono, perbraukite tamponu per nedidelį paviršiaus plotą krašte; tada išstepkite iš šio inokuliuoto ploto.

Inkuatuokite 35–37 °C temperatūroje aerobinėmis sąlygomis su 5–10 % CO₂ arba be jo ir užrašykite rezultatus po 24, 48 ir, jei reikia, 72 valandų.

Vartotojas yra atsakingas už tinkamo inkubacijos laiko, temperatūros ir atmosferos pasirinkimą, priklausomai nuo apdorojamo mėginio, atgaunamų organizmų reikalavimų ir vietoje taikomų protokolų.

9 – SKAITYMAS IR INTERPRETAVIMAS

Po inkubacijos stebėkite bakterijų augimą ir užrašykite konkrečias kolonijų morfologines, chromatinės, hemolitinės savybes.

Toliau apibendrinamos kai kurių mikroorganizmų, kuriuos galima izoliuoti ant Kolumbijos kraujo agarą plokštelių, kolonijų charakteristikos.⁸





- A grupės streptokokų kolonijos paprastai yra apie 0.5–1 mm skersmens, skaidrios arba permatomos, kupolo formos, su lygia paviršiumi ir vientisu kraštu. Jos apsuptos aiškiai apibrėžta visiško hemolizės zona, paprastai dvigubai arba trigubai didesnė už kolonijos skersmenį.
 - B grupės streptokokų kolonijos paprastai yra didesnės (2–4 mm skersmens), apsuptos daug mažesnės visiško hemolizės zonos, o kai kurios padermės kraujo visai neskaido.
 - C ir G grupės beta-hemolitinį streptokokų kolonijų paviršiaus ar po paviršiumi išvaizda nepakankamai skiriasi nuo A grupės kolonijų, kad būtų naudinga identifikuojant.
 - D grupės streptokokų kolonijos (*S. bovis*) yra šiek tiek didesnės nei kitų streptokokų kolonijos, jos yra mažiau nepermatomos, iškilusios, pilkos arba pilkai baltos spalvos.
 - Pneumokokų kolonijos yra apvalios, su lygiais kraštais, gleivingos, apie 1 mm skersmens. Kai kultūra inkubuojama CO₂ inkubatoriuose, kolonijas supa gana didelė alfa hemolizės zona.
 - *Viridans* streptokokų kolonijos skiriasi dydžiu nuo taškinio iki lygiaverčio arba didesnio nei A grupės streptokokų. Kolonijos paprastai yra mažesnės nei pneumokokų. Jos gali būti gleivingos, permatomos arba blizgios ir nepermatomos. Kolonijas gali apsupti nedidelė alfa hemolizės zona (dalinis raudonųjų kraujo kūnelių sunaikinimas) arba jos gali neturėti hemolizės zonos.
 - Staphylococci kolonijos yra geltonos arba baltos spalvos, su beta hemolizės zona arba be jos.
 - *Listeria monocytogenes* kolonijos yra apsuptos nedidelė beta hemolizės zona.
- Kai kolonijos išauga ant Kolumbijos kraujo agarų plokštelių, vartotojas turi atskirti potencialius patogenus, kuriuos reikia identifikuoti ir ištirti antimikrobiniais preparatais, nuo teršalų, kurie yra normalios mikrobiotos n

10 – VARTOTOJO KOKYBĖS KONTROLĖ

Visos pagamintos produkto partijos yra išleidžiamos į pardavimą po to, kai atlikta kokybės kontrolė, siekiant patikrinti atitiktį specifikacijoms. Tačiau galutinis vartotojas gali atlikti savo kokybės kontrolę pagal vietos galiojančius reglamentus, laikydamasis akreditacijos reikalavimų ir laboratorijos patirties. Toliau pateikiamos kelios bandymų padermės, naudingos kokybės kontrolei.⁹

KONTROLINIAI ŠTAMAI	INKUBACIJOS TEMPERATŪRA / T / ATM	TIKĖTINI REZULTATAI
<i>S. pyogenes</i> ATCC 1961	35–37 °C / 24 val. / A arba CO ₂	geras augimas, beta hemolizė
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 6305	35–37 °C / 24 val. / A arba CO ₂	geras augimas, alfa hemolizė
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	35–37 °C / 24 val. / A arba CO ₂	geras augimas
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35–37 °C / 24 val. / A arba CO ₂	geras augimas

A: aerobinė inkubacija; ATCC yra American Type Culture Collection prekės ženklas

11- VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

Prieš pateikiant į rinką, visų paruoštų naudoti „Columbia Blood Agar“ plokščių ir žaliavų, naudojamų paruoštų plokščių gamybai (dehidratuota „Columbia Blood Agar Base REF 401136“), reprezentatyvus mėginys yra tiriamas dėl produktyvumo ir hemolizinio modelio, lyginant rezultatus su anksčiau patvirtintu etaloniniu partijos mėginiu.

Produktyvumas tiriamas kiekybiniu bandymu su 2 štamais: *C. jejuni* ATCC 33291 ir *C. coli* ATCC 43478: plokštelės inokuliuojamos dešimtainiais tirpalais fiziologiniame tirpale su kolonijų suspensija ir inkubuojamos 41,5± 1°C temperatūroje 44±4 valandas mikroaerofilinėje aplinkoje. Kolonijos suskaičiuojamos abiejose partijose ir apskaičiuojamas produktyvumo koeficientas (*Pr*). Jei *Pr* yra ≥ 0.7, rezultatai laikomi priimtinais ir atitinkančiais specifikacijas. Be to, produktyvumo charakteristikos tiriamos pusiau kiekybiniu ekometrinės technikos metodu su šiomis padermėmis: *S. pyogenes* ATCC 19615, *S. pyogenes* ATCC 12384, *S. pneumoniae* ATCC 6305, *S. agalactiae* ATCC 12386, *S. agalactiae* klinikinis izoliatas, *S. aureus* ATCC 25923 ir *E. coli* ATCC 25922. Po 18–24 valandų inkubacijos 35–37 °C temperatūroje įvertinami ir užregistruojami hemolizės tipai ir augimo kiekis. Visos padermės rodo gerą augimą su tipiniu hemolizės modeliu.

Tikslumas buvo įvertintas peržiūrint kokybės kontrolės duomenis. Buvo įvertinti 37 partijų, pagamintų nuo 2019 m. sausio 1 d. iki 2020 m. gegužės 25 d. (), rezultatai. 100 % partijų atitiko nustatytus priimtumo kriterijus produktyvumo ir diferencinių savybių (hemolizės) atžvilgiu su tiksliniais štamais.

12 – METODO APRIBOJIMAI

- Dėl angliavandenių (krakmolo) kiekio „Columbia Blood Agar“ terpėje β-hemolitiniai streptokokai gali rodyti α-hemolitinę reakciją aplink nedidelę aiškia β-hemolizės zoną arba gali rodyti silpną hemolitinę reakciją.
- Priklausomai nuo tiriamų mėginių ir tiriamų mikroorganizmų, rekomenduojama naudoti ir papildomas terpes, pvz., selektyvias terpes ir šokolado agarą.
- Hemolizės augimas ir tipas priklauso nuo organizmų metabolinių poreikių; įmanoma, kad kai kurios padermės neauga ir (arba) gali rodyti kitokius nei tikėtasi hemolizės modelius. *Haemophilus influenzae*, kuriam reikalingi tiek X, tiek V faktoriai, šioje terpėje neauga⁽¹⁰⁾; *Neisseria*, *Mycobacterium*, *Bordetella* ir kiti mikroorganizmai, turintys labai specifinius mitybos poreikius, neauga tinkamai; šių organizmų aptikimui reikėtų naudoti specialias auginimo terpes.
- Prietaisas nėra skirtas infekcijoms diagnozuoti ar antimikrobinio gydymo rekomendacijoms teikti. Jis naudojamas diagnostinių tyrimų rinkinyje, siekiant gauti mikroorganizmų, izoliuotus iš klinikinio paciento, įtariamą bakterinę infekciją, mėginių. Norint visiškai identifikuoti kolonijas ir nustatyti jų epidemiologinį tipą, reikia atlikti atitinkamus tyrimus; jei reikia, atlikite antimikrobinio jautrumo tyrimus, naudodami rekomenduojamus metodus.

13 – ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

- Šis produktas yra kokybinis *in vitro* diagnostikos prietaisas, skirtas tik profesionaliam naudojimui, nėra automatizuotas ir nėra papildoma diagnostikos priemonė. Jį turi naudoti tinkamai apmokyti ir kvalifikuoti laboratorijos darbuotojai, laikydamiesi biologinio pavojaus atsargumo priemonių ir aseptikos reikalavimų.
- Pagal galiojančius Europos Sąjungos teisės aktus šis produktas nėra klasifikuojamas kaip pavojingas.
- Ši auginimo terpė yra gyvūninės kilmės žaliavų. Todėl rekomenduojama naudoti paruoštas plokšteles kaip potencialiai infekcines ir elgtis su jomis laikantis įprastų specialių atsargumo priemonių: nevirtoti, neįkvėpti, neleisti liestis su oda, akimis, gleivinėmis. Atsisiųskite TSE pareiškimą iš svetainės www.biolifeitaliana.it, kuriame aprašomos priemonės, taikomos infekcinių gyvūnų ligų rizikai mažinti.
- Visi laboratoriniai mėginiai turėtų būti laikomi infekciniais.
- Laboratorijos patalpos turi būti kontroliuojamos, kad būtų išvengta užteršimo, pvz., kultūrinės terpės ar mikrobu.
- Kiekviena šio auginimo terpės plokštelė skirta vienkartiniam naudojimui.





- Paruošti naudoti indai neturi būti laikomi „steriliais produktais“, nes jie nėra galutinai sterilizuojami, bet yra produktai su kontroliuojamu biologiniu užteršimu, neviršijančiu kokybės kontrolės sertifikate nurodytų specifikacijų ribų.
- Prieš išmesdami sterilizuokite visas biologinio pavojaus atliekas ir išmeskite nenaudotą terpę bei sterilizuotas lėkšteles, į kurias buvo įterpti mėginiai ar mikrobu štamai, laikydamiesi galiojančių vietos teisės aktų.
- Produkto analizės sertifikatai ir saugos duomenų lapas yra pateikti interneto svetainėje www.biolifeitaliana.it.
- Apie bet kokį rimtą incidentą, susijusį su *in vitro* diagnostikos priemonių naudojimu, praneškite gamintojui (complaint@biolifeitaliana.it) ir atitinkamoms institucijoms.
- Gamintojas neatsako už jokių nuostolių ar žalą, kurie koku nors būdu atsiranda dėl produkto naudojimo nesilaikant pateiktų instrukcijų arba yra su tuo susiję.

14 – LAIKYMO SĄLYGOS IR GALIOJIMO LAIKAS

Gavus plokšteles, jas reikia laikyti originalioje pakuotėje 2–8 °C temperatūroje, apsaugant nuo tiesioginių saulės spindulių. Tinkamai laikomos plokštelės gali būti naudojamos iki galiojimo pabaigos datos. Plokštelių negalima naudoti pasibaigus galiojimo datai. Atidaryto plastikinio maišelio plokšteles galima naudoti 7 dienas, jei jos laikomos šviesoje vietoje 2–8 °C temperatūroje. Plokštelių nenaudokite, jei plastikinis maišelis yra pažeistas arba indas yra sudaužytas. Plokštelių nenaudokite, jei yra gedimo požymių (pvz., mikrobiologinis užteršimas, dehidratacija, terpės susitraukimas ar įtrūkimai, netipinė spalva, drėgmės perteklius).

15 – NUORODOS

1. Ellner PD, Stoessel CJ, Drakeford E, Vasi, F. A new culture medium for medical bacteriology. *Am. J. Clin. Path* 1966; 45: 502-504.
2. Atlas D, Snyder J. Media Reagents and Stains. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.345.
3. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
4. ISO 10272-1, 10272-2: 2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1: detection, part 2: enumeration
5. Baron EJ, Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.270.
6. Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, Rohner P, Piot P, Heuck CC. *Basic laboratory procedures in clinical bacteriology*. 2nd ed. 2003; Geneva: World Health Organization.
7. The Royal College of Pathologists. Bacteriology. <https://www.rcpath.org/profession/publications/standards-for-microbiology-investigations/bacteriology.html>
8. Balows, A., Hausler, W.J., Herrmann, KL, Isenberg HD and Shadomy, HJ (ed) (1991) In *Manual of Clinical Microbiology*, 5th edition, Washington, DC: American Society for Microbiology; 1991.
9. CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004
10. Nye KJ, Fallon D, Gee B, Messer S, Warren RE, Andrews N. A comparison of blood Agar supplemented with NAD with plain blood agar and chocolate blood agar in the isolation of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus Influenzae* from sputum. *Bacterial Methods Evaluation Group J Med Microbiol* 48 (12), 1111-1114 Dec 1999

TAIKOMŲ SIMBOLIŲ LENTELĖ

REF Katalogo numeris	LOT Partijos kodas	IVD <i>In vitro</i> diagnostikos medicinos prietaisas	Gamintojas	Šia puse į viršų	Tik vienkartiniam naudojimui	CE Europos atitikties ženklas
Temperatūros ribos	Turinio pakanka <n> bandymams	Žiūrėkite elektronines naudojimo instrukcijas	Naudoti iki	Laikyti toliau nuo saulės spindulių	Trapus, tvarkykite atsargiai	UDI Unikalus prietaiso identifikatorius

REDAGAVIMO ISTORIJA

Versija	Pakeitimų aprašymas	Data
3 redakcija	<i>Suderinimas su anglų kalbos peržiūros indeksu</i>	2025/10

Pastaba: nedideli tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukti į pakeitimų istoriją.

