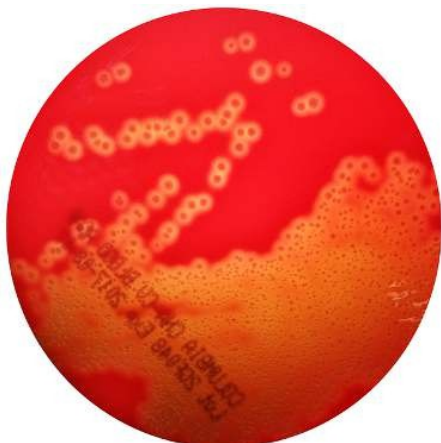


BRUKSANVISNINGAR

COLUMBIA CNA AGAR BASE

Dehydrated culture medium



Columbia CNA Blood Agar:
Grupp A β -hemolytiska streptokocker

1 - AVSEDD ANVÄNDNING

In vitro-diagnostik. Selektivt medium för isolering av grampositiva kocker från kliniska och icke-kliniska prover som innehåller blandflora och för bestämning av bakteriellt hemolytiskt mönster.

2- SAMMANSÄTTNING - TYPISKA FORMLER

(EFTER REKONSTITUERING MED 1 LITER VATTEN)

Peptocomplex	10 g
Tryptose	10 g
Peptone	3 g
Maize starch	1 g
Sodium chloride	5 g
Agar	12 g
Nalidixic acid	15 mg
Colistin	10 mg

*Formeln kan justeras och/eller kompletteras för att uppfylla de nödvändiga prestandakriterierna.

3 - METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV TILLVÄGAGÅNGSSÄTTET

Columbia blodagar med 10 mg/L kolistin och 15 mg/L nalidixinsyra beskrevs första gången 1966 av Ellner, Stoessel, Drakeford och Vasi⁽¹⁾ vid Columbia University, som kombinerade kött- och kaseinpeptoner, antibiotika och defibrinerat fårblood i ett medium för isolering av grampositiva kocker. Efter 2 års försök visade detta medium anmärkningsvärt förbättrade tillväxtfrämjande egenskaper och det visade sig vara överlägset blodagar som tidigare använts för att skilja mellan β - och α -hemolytiska organismer.¹

Columbia CNA Blood Agar är ett selektivt medium avsett för isolering och bestämning av hemolytiska egenskaper hos grampositiva kocker (*Staphylococcus* och *Streptococcus*), särskilt när gramnegativa bakterier (t.ex. *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*) förekommer i proverna och tenderar att växa över på konventionella blodagarplattor.^(2,3)

Peptoner ger kol, kväve och spårämnen för bakterietillväxt, natriumklorid upprätthåller den osmotiska balansen, majsstärkelse ingår för att absorbera toxiska biprodukter i provet och är en energikälla för bakterietillväxt. Kolistin, ett polypeptidantibiotikum i polymyxingruppen, och nalidixinsyra, en första generationens kinolon, är främst aktiva mot gramnegativa bakterier, vilket gör mediet selektivt för grampositiva kocker. Förekomsten av defibrinerat blod möjliggör bestämning av hemolytiskt mönster, vilket är ett användbart verktyg för identifiering av bakterier.

4- ANVISNINGAR FÖR MEDIUMBEREDNING

Suspendera 41 g i 1000 mL kallt renat vatten; värm till kokpunkten under frekvent omrörning och sterilisera genom autoklavering i 121° C i 15 minuter. Kyl till 47-50°C och tillsätt 5-7 % sterilt defibrinerat blod från får eller häst, blanda väl och håll upp i sterila petriskålar.

5 - FYSISKA EGENSKAPER

Uttorkat medium utseende

Lösningens utseende

Färdigberedda plattors utseende

Slutligt pH vid 20-25 °C

beige, fint, homogent, lättflytande pulver

gul, opaliserande

röd, ogenomskinlig

7.3± 0.2

6 - MATERIAL SOM TILLHANDAHÅLLS - FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Paket
Columbia CNA Blod Agar Base	Dehydratiserat medium	40113612	500 g (12.2 L)
		40113614	5 kg (122 L)

7 - MATERIAL KRÄVS MEN TILLHANDAHÅLLS INTE

Autoklav, vattenbad, sterila slingor och svabbar, inkubator och laboratorieutrustning enligt behov, generatorer och burkar med kontrollerad atmosfär, djurblod, selektiva tillskott, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

8 - PROVER

Columbia CNA Blood Agar Base kompletterad med defibrinerat får- eller hästblod kan direkt inokuleras med kliniska prover som samlats in från olika normalt icke-sterila platser hos människor.^{4,5} God labororiesed för insamling, transport och förvaring av de kliniska proverna bör tillämpas; se lämpliga referenser för ytterligare information.⁴

9- TESTFÖRFARANDE

Låt plattorna komma upp i rumstemperatur och låt ytan på mediet torka. Inokulera och stryk provet med en slinga över plattans fyra kvadranter för att få välisolerade kolonier, se till att sektionerna 1 och 4 inte överlappar varandra. Alternativt, om materialet odlas direkt från en pinne, rulla pinnen över en liten del av ytan vid kanten och stänk sedan från detta inokulerade område.

Inkubera vid 35-37°C under aeroba förhållanden med eller utan 5-10% CO₂ och notera resultaten efter 18-24 och 48 timmar.





10 - AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubationen observeras bakterietillväxten och koloniernas specifika morfologiska, kromatiska och hemolytiska egenskaper registreras. Här nedan sammanfattas koloniernas egenskaper hos några mikroorganismer som kan isoleras på Columbia CNA Agar kompletterat med defibrinerat fårblod.⁽⁶⁾

- Kolonierna av grupp A-streptokocker är vanligen ca 0.5 mm i diameter, genomskinliga eller genomflytande och kupolformade, med en slät yta och en hel kant. De omges av en väldefinierad zon med fullständig hemolys, vanligen två eller tre gånger kolonins diameter.
- Kolonierna av grupp B-streptokocker är vanligen större (1-2 mm i diameter) och omges av en mycket mindre zon med fullständig hemolys. Vissa stammar lyserar inte blodet alls.
- Utseendet på β -hemolytiska grupp C- och grupp G-streptokockkolonier på eller under ytan skiljer sig inte tillräckligt mycket från utseendet på grupp A-kolonier för att vara av värde vid identifiering.
- Grupp D-streptokockkolonier (*S. bovis*) är något större än andra streptokockkolonier, de är mindre ogenomskinliga, upphöjda, grå till gråvita och icke hemolytiska.
- Pneumokockkolonierna är runda med hela kanter, mjuka och cirka 0.5-1 mm i diameter. När kulturen har inkuberats i CO₂-inkubatorer omges kolonierna av en ganska stor zon med α -hemolys.
- Kolonierna av viridansstreptokocker varierar i storlek från en nålspets till en storlek som är stor som eller större än kolonierna av grupp A-streptokocker. Kolonierna är vanligen mindre än de hos pneumokocker. De kan vara mukoida eller genomskinliga eller glansiga och icke genomskinliga. Kolonierna kan vara omgivna av en liten zon av α -hemolys (partiell förstörelse av röda) eller inte ha någon hemolyszon.
- Stafylokockkolonier är gula eller vita med eller utan en β -hemolyszon.

Användning av annat defibrinerat blod än fårblod (t.ex. hästblod) kan ge upphov till andra hemolytiska typer än de som beskrivs ovan.

11 - KVALITETSKONTROLL AV ANVÄNDARE

Alla tillverkade partier av produkten släpps för försäljning efter att kvalitetskontrollen har utförts för att kontrollera att specifikationerna uppfylls. Slut användaren kan dock utföra sin egen kvalitetskontroll i enlighet med gällande lokala bestämmelser, ackrediteringskrav och laboratoriets erfarenhet. Här nedan listas några teststammar som är användbara för.⁽⁷⁾

KONTROLLSTAMMAR			INKUBATION T° / T / ATM	FÖRVÄNTADE RESULTAT
<i>S. pyogenes</i>	ATCC	19615	35-37°C / 18-24H / A eller CO ₂	tillväxt, beta hemolys
<i>S. pneumoniae</i>	ATCC	6305	35-37°C / 18-24H / A eller CO ₂	tillväxt, alfa hemolys
<i>S. aureus</i>	ATCC	25923	35-37°C / 18-24H / A eller CO ₂	tillväxt
<i>P. mirabilis</i>	ATCC	12453	35-37°C / 44-48H / A eller CO ₂	helt eller delvis hämmad

A: aerob inkubation; ATCC är ett varumärke som tillhör American Type Culture Collection

12- EGENSKAPER FÖR FÖRESTÄLLNINGAR

Före frisläppande för försäljning testas ett representativt urval av alla partier av uttorkad Columbia CNA Agar Base kompletterad med defibrinerat fårblod med avseende på produktivitet, selektivitet och hemolytiskt mönster genom att jämföra resultaten med ett tidigare godkänt.

Produktiviteten undersöks med semikvantitativ ekometrisk teknik med följande målstammar: *S. pyogenes* ATCC 19615, *S. pyogenes* ATCC 12384, *S. pneumoniae* ATCC 6305, *S. agalactiae* ATCC 12386, *S. agalactiae* ATCC 13813, Grupp C *Streptococcus* ATCC 12388, *S. aureus* ATCC 25923. Efter inkubation vid 35-37°C under 18-24 timmar i aerob atmosfär utvärderas och registreras typen av hemolys och mängden tillväxt. Alla stammar uppvisar god tillväxt med typiskt hemolytiskt mönster. Selektiviteten utvärderas med modifierad Miles-Misra ytdropsmetod genom att inokulera plattorna med decimala utspädningar i saltlösning från 10⁻¹ till 10⁻⁴ av en 0.5 McFarland suspension av icke-målorganismerna *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* ATCC 10005, *P. aeruginosa* ATCC 14207. Efter inkubation vid 35-37°C under 44-48 timmar i aerob atmosfär hämmas tillväxten av alla icke-målstammar vid spädning 10⁻¹.

13 - BEGRÄNSNINGAR AV METODEN

- På grund av kolhydratinnehållet (stärkelse) i Columbia CNA Blood Agar kan vissa β -hemolytiska streptokocker uppvisa en α -hemolytisk reaktion runt en liten klar zon av β -hemolys eller uppvisa svaga hemolytiska reaktioner med defibrinerat fårblod.⁽³⁾
- Tillväxten och typen av hemolys beror på organismernas metaboliska krav; det är möjligt att vissa stammar inte växer och/eller kan uppvisa andra hemolytiska mönster än förväntat.
- Kolonidiametern är i allmänhet mindre än den som observerats på Columbia Blood Agar.
- Vissa gramnegativa bakterier och jästsvampar kan vara resistenta mot CNA-antibiotikablandningen och kanske inte hämmas på detta medium.
- Eftersom vissa patogener kräver koldioxid för att växa, är det att föredra att inkubera plattorna med 5-10% CO₂.
- Även om de mikrobiella kolonierna på plattorna kan särskiljas med hjälp av deras morfologiska och kromatiska egenskaper, rekommenderas att biokemiska, immunologiska, molekylära eller masspektrometriska tester utförs på isolat från renkultur för fullständig identifiering. Om det krävs och är relevant, utför testning av antimikrobiell känslighet.
- Detta odlingsmedium är avsett som ett hjälpmedel vid diagnos av infektionssjukdomar; tolkningen av resultaten måste göras med hänsyn till patientens kliniska historia, provets ursprung och resultaten av de mikroskopiska och/eller andra diagnostiska testerna.

14 - FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

- Denna produkt är en kvalitativ *in vitro*-diagnostik, endast avsedd för professionellt bruk; den ska användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal som iakttar godkända försiktighetsåtgärder vid biologiskt risktagande och aseptiska tekniker.
- Uttorkade medier måste hanteras med lämpligt skydd. Läs före användning.
- Detta odlingsmedium innehåller råmaterial av animaliskt ursprung. Ante- och post mortem-kontrollerna av djuren och kontrollerna under råmaterialens produktions- och distributionscykel kan inte helt garantera att denna produkt inte innehåller någon överförbar patogen. Därför rekommenderas att odlingsmediet behandlas som potentiellt smittsamt och hanteras med iakttagande av sedvanliga försiktighetsåtgärder: får inte intas, andas in eller komma i kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Ladda ner TSE-uttalandet från webbplatsen www.biolifeitaliana.it, som beskriver de åtgärder som Biolife Italiana har vidtagit för att minska riskerna i samband med smittsamma djursjukdomar.
- Tillämpa god tillverkningssed vid beredning av pläterade eller buteljerade medier.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar som odlingsmedium eller mikrobiella agens.





- Sterilisera allt biologiskt riskavfall före kassering. Kassera det oanvända mediet och de steriliserade plattorna som inokulerats med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Använd inte odlingsmediet som aktiv ingrediens i farmaceutiska preparat eller som produktionsmaterial avsett människor och djur.
- Analyscertifikat och säkerhetsdatablad för produkten finns tillgängliga på webbplatsen www.biolifeitaliana.it.
- underrätta Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) och relevanta myndigheter om alla allvarliga incidenter som inträffar i samband med användningen av *in vitro*-diagnostikinstrumentet
- Informationen i detta dokument har definierats efter bästa förmåga och kunskap och utgör en riktlinje för korrekt användning av produkten, dock utan förpliktelser eller ansvar. I samtliga fall måste gällande lokala lagar, förordningar och standardprocedurer följas vid undersökning av prover som samlats in från organiska områden för människor och djur, för miljöprover och för produkter avsedda att konsumeras av människor eller djur. Vår information befriar inte våra kunder från deras ansvar för att kontrollera att vår produkt är lämplig för det avsedda ändamålet.

15 - FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHETSTID

Efter mottagandet, förvara vid +10°C /+30°C, borta från direkt ljus och på en torr plats. Om den förvaras korrekt kan den användas fram till utgångsdatumet. Använd inte efter detta datum. Undvik att öppna flaskan på fuktiga platser. Efter användning måste behållaren stängas ordentligt. Kassera produkten om behållaren och/eller locket är skadat, om behållaren inte är väl tillsluten eller om pulvret uppenbarligen försämrats (färgförändringar, hårdnar, stora klumpar).

Användaren är ansvarig för tillverknings- och kvalitetskontrollprocesserna för beredda medier och för valideringen av giltighetstiden för de färdiga produkterna, beroende på typ (plattor/flaskor), tillsatta tillägg och tillämpad förvaringsmetod (temperatur och förpackning).

16 - REFERENSER

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. 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.
5. Public Health England- UK Standards for microbiology investigations (UK SMI): searchable index. 9 January 2019
6. Balows, A., Hausler, W.J., Hermann, K.L., Isenberg HD and Shadomy, H.J. (ed) (1991) In Manual of Clinical Microbiology, 5th edition, Washington, DC: American Society for Microbiology; 1991.
7. CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

REF Katalognummer	Eller REF	LOT Batch-kod	IVD In vitro Diagnostik Medicinteknisk utrustning	Tillverkare	Bäst före
Temperaturbegränsning	Innehållet är tillräckligt för <n> tester	Läs bruksanvisningen	Utsätt inte för	Förvaras på en torr plats	

REVISIONSHISTORIK

Version	Beskrivning av förändringar	Datum
Revision 1	Uppdaterad layout och innehåll	2020/06
Revision 2	Uppdatering av "Försiktighetsåtgärder och varningar" och "Förvaringsförhållanden och hållbarhetstid"	2022/01
Revision 3	Avlägsnande av föråldrad klassificering	2023/04
Revision 4	Inkludering av hästblod i plattberedningsmetoden	2024/04

Observera: mindre typografiska, grammatiska och formateringsändringar ingår inte i revisionshistoriken.

