



COLUMBIA BLOOD AGAR

Färdiga plattor



Columbia Blood Agar:
Grupp A β -hemolytiska streptokocker

1 - AVSEDD ANVÄNDNING

In vitro-diagnostisk produkt. Icke-selektivt, allmänt medium för isolering, odling och bestämning av hemolytiskt mönster hos krävande och icke-krävande mikroorganismer från kliniska prover och andra material.

2 – SAMMANSÄTTNING – TYPISK FORMEL *

| | |
|----------------------|---------|
| Peptokomplex | 10 g |
| Tryptos | 10 g |
| Pepton | 3 g |
| Majsstärkelse | 1 g |
| Natriumklorid | 5 g |
| Agar | 12 g |
| Defibrinerat fårblod | 50 ml |
| Renat vatten | 1000 ml |

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

3 - METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Columbia Blood Agar beskrevs först 1966 av Ellner, Stoessel, Drakeford och Vasi¹ vid Columbia University, som kombinerade kött- och kaseinpeptoner och defibrinerat fårblod i ett medium. Efter två års försök visade detta medium påmärkbart förbättrade tillväxtfrämjande egenskaper och befanns vara överlägset den blodagar som tidigare använts för att differentiera β - och α -hemolytiska organismer.¹

Columbia Blood Agar är ett icke-selektivt, allmänt medium med defibrinerat fårblod, avsett för isolering, odling och bestämning av hemolytiskt mönster hos icke-krävande och krävande mikroorganismer, såsom *Corynebacterium* spp., *Actinomyces* spp., *S. pneumoniae*, *Staphylococcus*, *C. jejuni* från kliniska prover^{2,3}. Columbia Blood Agar rekommenderas för rening av kolonier och för bekräftelsetest med inkubation vid 25 °C under aeroba förhållanden, enligt ISO 10272-metoder för isolering och räkning av *Campylobacter* spp. i livsmedel.⁴

Peptoner tillhandahåller kol, kväve och spårämnen för bakterietillväxt, natriumklorid upprätthåller den osmotiska balansen, majsstärkelse ingår för att absorbera giftiga biprodukter i provet och är en energikälla för bakterietillväxt. Närvaron av fårblod möjliggör bestämning av hemolytiskt mönster, vilket är ett användbart verktyg för orientering vid bakterieidentifiering.

4 - FYSISKA EGENSKAPER

Mediumets utseende röd, ogenomskinlig
Slutligt pH vid 20–25 °C 7,3 ± 0,1

5 - MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING

| Produkt | Typ | REF | Förpackning |
|---------------------|-----------------|--------|--|
| Columbia Blood Agar | Färdiga plattor | 541136 | 2 x 10 plattor \varnothing 90 mm primärförpackning: 2 cellofanpåsar sekundärförpackning: kartong |

6 - MATERIAL SOM KRÄVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER

Sterila öglor och svabbprover, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, generatorer och burkar för kontrollerad atmosfär, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

7 – PROVER

Columbia Blood Agar-plattor kan direkt inokuleras med många kliniska prover (t.ex. slem, näsa, hals, sår, urin etc.). Se den angivna litteraturen för provtyper relaterade till specifika infektioner.⁵⁻⁷ Columbia Blood Agar är inte lämpligt för direkt inokulation av blodprover. Samla in prover före antimikrobiell behandling om möjligt. God labororiesed för insamling, transport och förvaring av kliniska prover bör tillämpas. Se lämpliga referenser för ytterligare information.⁵ För mikrobiologisk undersökning av livsmedel, se ISO-standarderna.⁴

8 - TESTFÖRFARANDE

Låt plattorna nå rumstemperatur och låt ytan på mediet torka.

Inokulera och sträck provet med en ögla över plattans fyra kvadranter för att få väl isolerade kolonier, och se till att sektionerna 1 och 4 inte överlappar varandra. Alternativt, om materialet odlas direkt från en bomullspinne, rulla bomullspinnen över ett litet område av ytan vid kanten; sträck sedan från detta inokulerade område.

Inkubera vid 35–37 °C under aeroba förhållanden med eller utan 5–10 % CO₂ och registrera resultaten efter 24, 48 och, om nödvändigt, 72 timmar.

Användaren ansvarar för att välja lämplig inkubationstid, temperatur och atmosfär beroende på det bearbetade provet, kraven för de organismer som ska återvinnas och de lokala tillämpliga protokollen.

9 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubation observerar du bakterietillväxten och noterar koloniernas specifika morfologiska, kromatiska och hemolytiska egenskaper. Nedan sammanfattas koloniernas egenskaper hos vissa mikroorganismer som kan isoleras på Columbia Blood Agar-plattor.⁸

• Kolonierna av grupp A-streptokocker är vanligtvis cirka 0,5–1 mm i diameter, transparenta eller genomskinliga och välvda, med en slät yta och en hel kant. De omges av en väl definierad zon med fullständig hemolys, vanligtvis två eller tre gånger kolonins diameter.





- Kolonierna av streptokocker i grupp B är vanligtvis större (2–4 mm i diameter) och omgivna av en mycket mindre zon med fullständig hemolys, och vissa stammar lyserar inte blodet alls.
 - Utseendet på ytliga eller underliggande beta-hemolytiska streptokockkolonier av grupp C och grupp G skiljer sig inte tillräckligt från kolonier av grupp A för att vara av någon betydelse för identifieringen.
 - Streptokockkolonier av grupp D (*S. bovis*) är något större än andra streptokockkolonier, de är mindre opaka, upphöjda och grå till gråvita.
 - Pneumokockkolonier är runda med hela kanter, slemliga och cirka 1 mm i diameter. När odlingen har inkuberats i CO₂ inkubatorer omges kolonierna av en ganska stor zon med alfa-hemolys.
 - *Viridans* streptokockkolonier varierar i storlek från nålspetsstora till lika stora eller större än grupp A-streptokocker. Kolonierna är vanligtvis mindre än pneumokockernas. De kan vara slemliga eller genomskinliga eller glansiga och icke-genomskinliga. Kolonierna kan vara omgivna av en liten zon med alfa-hemolys (partiell förstörelse av röda blodkroppar) eller sakna hemolyszon.
 - Stafylokockkolonier är gula eller vita med eller utan beta-hemolyszon.
 - *Listeria monocytogenes*-kolonier är omgivna av en liten beta-hemolytisk zon.
- När kolonierna har vuxit på Columbia Blood Agar-plattor måste användaren skilja mellan potentiella patogener som kräver identifiering och antimikrobiell testning och kontaminanter som representerar medlemmar av normal mikrobiota.

10 – ANVÄNDARENS KVALITETSKONTROLL

Alla tillverkade partier av produkten släpps ut för försäljning efter att kvalitetskontroll har utförts för att kontrollera att specifikationerna uppfylls. Slut användaren kan dock utföra sin egen kvalitetskontroll i enlighet med lokala tillämpliga bestämmelser, i enlighet med ackrediteringskrav och laboratoriets erfarenhet. Nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontroll.⁹

| KONTROLLSTAMMAR | INKUBATIONSTEMPERATUR/T/ATM | FÖRVÄNTADE RESULTAT |
|--------------------------------|--|----------------------------|
| <i>S. pyogenes</i> ATCC 1961 | 35–37 °C / 24 timmar / A eller CO ₂ | god tillväxt, betahemolys |
| <i>S. pneumoniae</i> ATCC 6305 | 35–37 °C / 24 timmar / A eller CO ₂ | god tillväxt, alfa-hemolys |
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | 35–37 °C / 24 timmar / A eller CO ₂ | god tillväxt |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | 35–37 °C / 24 timmar / A eller CO ₂ | god tillväxt |

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

11- PRESTANDAEGENSKAPER

Innan produkten släpps ut på marknaden testas ett representativt prov av alla partier av färdiga plattor med Columbia Blood Agar och av råmaterialen som används för tillverkningen av färdiga plattor (dehydrerad Columbia Blood Agar Base REF 401136) med avseende på produktivitet och hemolytiskt mönster genom att resultaten jämförs med ett tidigare godkänt referensparti.

Produktiviteten testas genom ett kvantitativt test med två stammar: *C. jejuni* ATCC 33291 och *C. coli* ATCC 43478: plattorna inokuleras med decimala utspädningar i saltlösning av en kolonisuspension och inkuberas vid 41,5 °C ± 1 °C i 44 ± 4 timmar i mikroaerofil atmosfär. Kolonierna räknas på båda satserna och produktivitetsförhållandet (*Pr*) beräknas. Om *Pr* är ≥ 0,7 anses resultaten vara godtagbara och överensstämmer med specifikationerna. Dessutom testas produktivitetskaraktäristika genom semikvantitativ ekometrisk teknik med följande stammar: *S. pyogenes* ATCC 19615, *S. pyogenes* ATCC 12384, *S. pneumoniae* ATCC 6305, *S. agalactiae* ATCC 12386, *S. agalactiae* kliniskt isolat, *S. aureus* ATCC 25923 och *E. coli* ATCC 25922. Efter inkubation vid 35–37 °C i 18–24 timmar utvärderas och registreras typerna av hemolys och tillväxtmängden. Alla stammar uppvisar god tillväxt med typiskt hemolytiskt mönster.

Noggrannheten bedömdes genom granskning av kvalitetskontrolluppgifterna. Resultaten från 37 batcher som producerats från 1/1/2019 till 25/5/2020 utvärderades. 100 % av batcherna visade överensstämmelse med definierade acceptanskriterier i termer av produktivitet och differentiella egenskaper (hemolys) med målstammar.

12 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- På grund av kolhydratinnehållet (stärkelse) i Columbia Blood Agar kan β-hemolytiska streptokocker uppvisa en α-hemolytisk reaktion runt en liten klar zon av β-hemolys eller uppvisa svaga hemolytiska reaktioner.
- Beroende på de analyserade proverna och de mikroorganismer som testas rekommenderas det att även använda ytterligare medier, såsom selektiva medier och chokladagar.
- Tillväxten och typen av hemolys beror på organismens metaboliska behov; det är möjligt att vissa stammar inte växer och/eller uppvisar andra hemolytiska mönster än förväntat. *Haemophilus influenzae*, som kräver både faktor X och faktor V, växer inte på detta medium¹⁰; *Neisseria*, *Mycobacterium*, *Bordetella* och andra mikroorganismer med mycket specifika näringsbehov växer inte tillräckligt; för att detektera dessa organismer bör specifika odlingsmedier användas.
- Produkten är inte avsedd för att diagnostisera infektioner eller som vägledning för antimikrobiell behandling. Den används i en diagnostisk undersökningsserie för att tillhandahålla mikrobiella kolonier isolerade från kliniska prover från patienter med misstänkt bakteriell infektion. Lämpliga tester krävs för fullständig identifiering och epidemiologisk typning av kolonier; vid behov ska antimikrobiella känslighetstester utföras med rekommenderade metoder.

13 – FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

- Denna produkt är en kvalitativ *in vitro*-diagnostisk produkt avsedd endast för professionellt bruk, är inte automatiserad och är inte ett kompletterande diagnostiskt verktyg. Den måste användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal som iakttar försiktighetsåtgärder mot biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Denna produkt är inte klassificerad som farlig enligt gällande europeisk lagstiftning.
- Detta odlingsmedium innehåller råvaror av animaliskt ursprung. Därför rekommenderas att de färdiga plattorna behandlas som potentiellt smittsamma och hanteras med iakttagande av de vanliga specifika försiktighetsåtgärderna: få inte i dig, andas inte in och låt inte komma i kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Ladda ner TSE-uttalandet från webbplatsen www.biolifeitaliana.it, som beskriver de åtgärder som vidtagits för att minska risken i samband med smittsamma djursjukdomar.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar såsom odlingsmedium eller mikrobiella agens.
- Varje platta med detta odlingsmedium är endast avsedd för engångsbruk.
- Färdiga plattor ska inte betraktas som en "steril produkt" eftersom de inte genomgår slutsterilisering, utan som en produkt med kontrollerad biologisk kontaminering, inom gränserna för de specifikationer som anges i kvalitetskontrollcertifikatet.
- Sterilisera allt biologiskt farligt avfall före bortskaffande och kassera oanvänt medium och steriliserade plattor som inokulerats med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.





- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet för produkten finns tillgängliga på webbplatsen www.biolifeitaliana.it.
- Meddela tillverkaren (complaint@biolifeitaliana.it) och berörda myndigheter om allvariga incidenter som inträffar i samband med användningen av *in vitro*-diagnostik.
- Tillverkaren kan inte hållas ansvarig för förlust eller skada som på något sätt uppstår till följd av eller i samband med användning av produkten på ett sätt som inte överensstämmer med de medföljande anvisningarna.

14 – FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET

Vid mottagandet ska plattorna förvaras i sin originalförpackning vid 2–8 °C och skyddas från direkt ljus. Om de förvaras på rätt sätt kan plattorna användas fram till utgångsdatumet. Använd inte plattorna efter detta datum. Plattor från öppnade plastpåsar kan användas i 7 dagar om de förvaras i en ren miljö vid 2–8 °C. Använd inte plattorna om plastpåsen är skadad eller om skålen är trasig. Använd inte plattor som visar tecken på försämring (t.ex. mikrobiell kontaminering, uttorkning, krympning eller sprickbildning i mediet, atypisk färg, överdriven fuktighet).

15 - 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. 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; Geneve: 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

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

| | | | | | | |
|--|--|--|--|---|--|---|
|  Katalognummer |  Batchnummer |  <i>In vitro</i> -diagnostisk medicinteknisk produkt |  Tillverkare |  Denna sida uppåt |  Endast för engångsbruk |  Europeiskt märkning för överensstämmelse |
|  Temperaturbegränsningar |  Innehållet räcker till <n> tester |  Se elektroniska bruksanvisningar |  Använd före |  Förvaras skyddat från solljus |  Ömtåligt, hantera varsamt |  Unikt enhets-ID |

REVISIONSHISTORIK

| Version | Beskrivning av ändringar | Datum |
|------------|---|---------|
| Revision 1 | Uppdaterad layout och innehåll i enlighet med IVDR 2017/746 | 2020/05 |
| Revision 2 | Borttagning av föråldrad klassificering. | 2023/03 |
| Revision 3 | Prov, prestandaegenskaper, metodens begränsningar, försiktighetsåtgärder och varningar, tabell över tillämpliga symboler. | 2025/10 |

Anmärkning: mindre typografiska, grammatiska och formateringsmässiga ändringar ingår inte i revisionshistoriken.

