

COLUMBIA AGAR +5% SHEEP BLOOD

INSTRUKCJA UŻYCIA GOTOWEGO PODŁOŻA NA PŁYTCE

1. Przeznaczenie

Columbia Agar +5% Sheep Blood jest nieselektywnym podłożem stosowanym do jakościowego wykrywania drobnoustrojów niewymagających i wymagających w próbkach materiałów klinicznych pochodzących od człowieka oraz innych próbkach. Columbia Agar +5% Sheep Blood jest podstawowym podłożem wykorzystywanym w badaniach mikrobiologicznych zakażeń wywołanych przez większość patogenów człowieka.

Funkcją podłoża Columbia Agar +5% Sheep Blood jest wspomaganie diagnozy u pacjentów z objawami wskazującymi na potencjalne zakażenia różnymi drobnoustrojami patogennymi.

Drobnoustroje chorobotwórcze dla człowieka należą do różnych grup bakterii wywołujących miejscowe zakażenia tkanek i narządów, a także zakażenia ogólnoustrojowe.

Ze względu na swoje właściwości podłoże jest stosowane do wykrywania większości drobnoustrojów chorobotwórczych należących do różnych grup taksonomicznych. Do drobnoustrojów tych należą między innymi ziarenkowce Gram-dodatnie (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*), pałeczki Gram-ujemne (*Enterobacterales*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*), a także pałeczki Gram-dodatnie (*Corynebacterium*). Obecność krwi w pożywce umożliwia określenie typu hemolizy, co jest wykorzystywane we wstępnej identyfikacji niektórych grup drobnoustrojów, szczególnie z rodzaju *Streptococcus*.

Nr kat.:	Rodzaj podłoża:	Opakowanie:
1190PD90	podłoże stałe na płytce, gotowe do użycia	1x10 szt (90 mm)

2. Zasada działania

Podłoże zawiera wysokowartościowe hydrolizaty białkowe, które umożliwiają obfity i szybki wzrost drobnoustrojów o dużych wymaganiach odżywczych. Skrobia kukurydziana jest źródłem energii stymulującym wzrost bakterii, pochłania toksyczne składniki obecne w badanej próbce oraz wzmacnia reakcję hemolityczną niektórych paciorkowców. Wyciąg drożdżowy jest źródłem witamin z grupy B. Dodatek krwi baraniej dostarcza czynnika X niezbędnego dla wzrostu wielu bakterii, a także pozwala na określenie typu hemolizy, co umożliwia wstępną identyfikację bakterii obecnych w badanej próbce.

3. Skład podłoża

w g/l wody destylowanej:	Suplementy/ litr pożywki:
Enzymatyczny hydrolizat kazeinowy	5,0 g
Enzymatyczny hydrolizat tkanek zwierzęcych	8,0 g
Wyciąg drożdżowy	10,0 g
Agar	14,0 g
Chlorek sodu	5,0 g
Skrobia kukurydziana	1,0 g
	Odwłókniona krew barania
	50 ml

pH 7,3 ± 0,2 w temperaturze 25°C.

Wygląd podłoża - Podłoże jednorodne, czerwone

4. Przygotowanie pożywki

Pożywka jest gotowa do użycia. Bezpośrednio przed użyciem pożywkę należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

5. Wyposażenie wymagane, nie dostarczone

Sprzęt ogólnolaboratoryjny niezbędny do wykonania badań, w tym cięplarka laboratoryjna lub cięplarka z możliwością kontroli atmosfery.

6. Środki ostrożności

- Produkt przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego.
- Produkt niezautomatyzowany.
- Podłoże zawiera składniki pochodzenia zwierzęcego, co może wiązać się z obecnością biologicznych czynników chorobotwórczych, dlatego z podłożem należy postępować zgodnie z zasadami pracy z materiałem biologicznym potencjalnie zakaźnym.
- Nie należy używać płytek, jeżeli na podłożu są widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.
- Nie używać płytek uszkodzonych.
- Nie używać płytek zhemolizowanych
- Nie używać płytek po terminie ważności.
- Nie dopuszcza się ponownej inkubacji wcześniej posianych płytek.
- W celu zapewnienia poprawnych wyników badań, należy postępować zgodnie z niniejszą instrukcją.
- W przypadku, gdy postępowanie z pożywką podczas wykonywania badań będzie odbiegało od opisanego w niniejszej instrukcji, laboratorium jest zobowiązane do przeprowadzenia walidacji przyjętego postępowania.

7. Przechowywanie

Płytki z podłożem należy przechowywać w temperaturze 2–12°C do upływu terminu ważności. Podłoża przechowywać w oryginalnym opakowaniu, w pozycji odwróconej, z dala od bezpośredniego źródła światła. Aby uniknąć zamrożenia agaru, nie należy przechowywać płytek blisko ścian lodówki. Aby uniknąć pojawienia się większej ilości wody skroplonej na wieczku płytki nie należy otwierać zbyt często lodówki i nie przechowywać podłoży w przepelnionej lodówce.

8. Termin ważności

Podłoże przechowywane w temperaturze 2–12°C zachowuje swoje właściwości do 65 dni od daty produkcji.

9. Materiał do badań

Próbki materiałów klinicznych pochodzące od człowieka pobrane głównie z uszu, górnych dróg oddechowych, dróg rodnych, a także ropa i płyny wysiękowe.

Próbki do badań pobierać zgodnie z aktualnymi wytycznymi dotyczącymi danego rodzaju materiału. Próbki do badań do czasu dostarczenia do laboratorium przechowywać zgodnie z zasadami przechowywania próbek obowiązującymi w laboratorium. Próbki moczu i kału należy przechowywać w lodówce. Wymazy, aspiraty, próbki pochodzące z dróg oddechowych, a także ropa i płyny wysiękowe i inne próbki pobrane na podłoża transportowe należy przechowywać w temperaturze pokojowej zgodnie z zaleceniami producenta podłoża. Wykonać posiew próbki możliwie jak najszybciej po dostarczeniu materiału do laboratorium.

10. Sposób wykonania

1. Przed użyciem podłoże należy doprowadzić do temperatury pokojowej.
2. Posiać próbkę rozprowadzając ją na powierzchni agaru.
3. Jeżeli próbka została pobrana na wymazówkę - końcówkę wymazówki delikatnie obracać na niewielkim obszarze agaru tuż przy brzegach płytki, a następnie wykonać posiew redukcyjny przy użyciu jałowej ezy.
4. Posiane płytki inkubować w warunkach tlenowych w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
5. W celu uzyskania wzrostu bakterii o różnych wymaganiach wzrostowych, podłoże można inkubować w warunkach o podwyższonej zawartości CO_2 (5 – 10%) przez 18-24 lub do 48 godzin w zależności od rodzaju badanej próbki oraz poszukiwanego drobnoustroju.
6. Wynik wzrostu odczytać po 18-24 lub 48 godzinach inkubacji

11. Odczyt i interpretacja wyników wzrostu

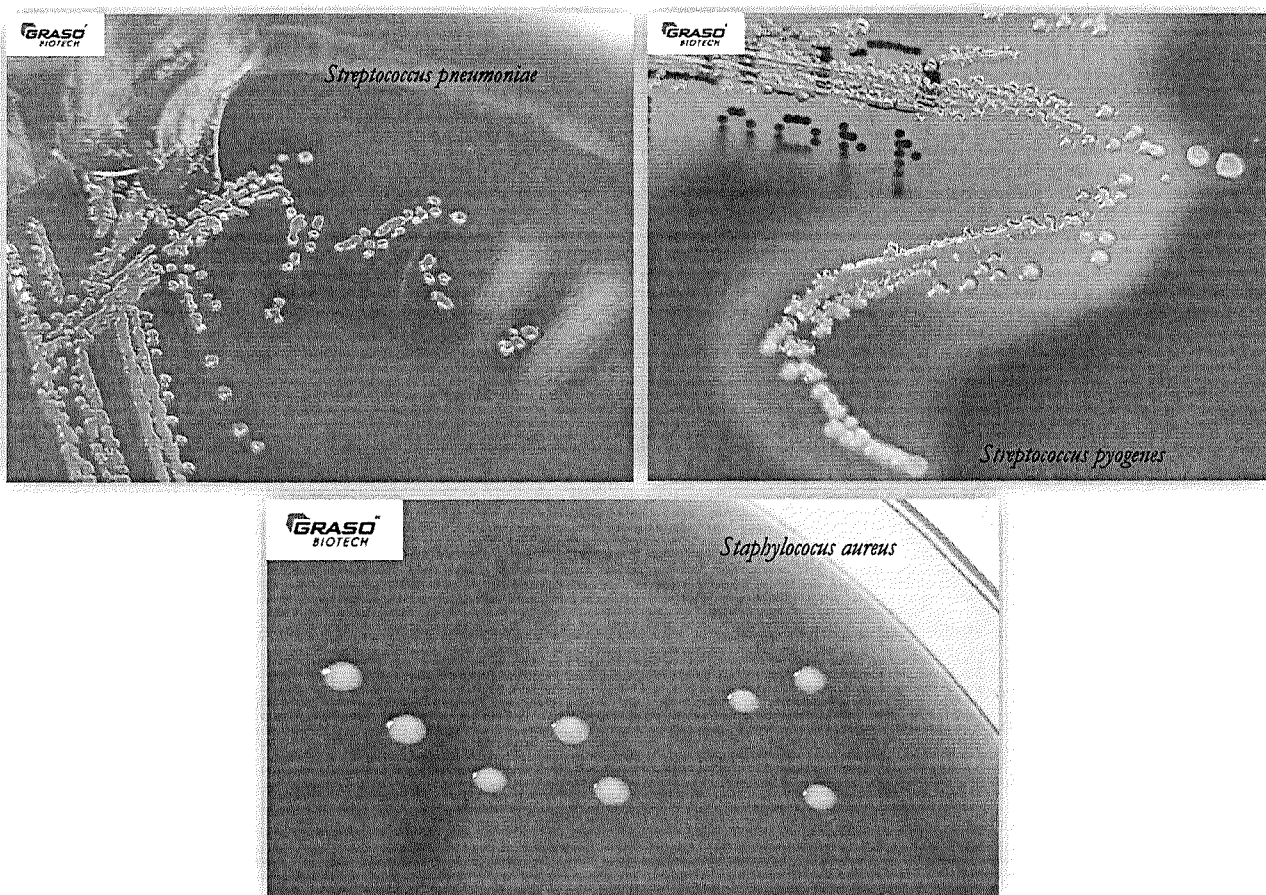
Po zakończeniu inkubacji obserwować:

- obecność wzrostu kolonii bakteryjnych,
- morfologię kolonii,
- zmiany barwy podłoża i obecność hemolizy
-

Typowa morfologia kolonii bakterii wyhodowanych na podłożu Columbia Agar +5% Sheep Blood:

Mikroorganizm	Typowa morfologia kolonii	Obecność i rodzaj hemolizy
Paciorkowce grupy A	Kolonie przezroczyste lub półprzezroczyste o średnicy około 0,5 mm, okrągłe, całobrzegie o gładkiej powierzchni	Wokół kolonii wyraźna strefa hemolizy β
Paciorkowce grupy B	Duże kolonie o średnicy około 1-2 mm	Wokół kolonii mała strefa hemolizy β lub brak hemolizy
Paciorkowce beta-hemolizujące grupy C i G	Morfologia kolonii podobna do morfologii paciorkowców grupy A	Wokół kolonii wyraźna strefa hemolizy β
Paciorkowce grupy D	Kolonie większe od pozostałych grup paciorkowców, lekko opalizujące, szare do szarobiałych	Hemoliza typu α lub brak hemolizy
Penumokoki	Kolonie o średnicy 0,5-1 mm, okrągłe, całobrzegie, śluzowate	Inkubowane w warunkach CO ₂ wykazują dużą strefę hemolizy typu α
Paciorkowce zieleniejące	Kolonie od małych (wielkość główki od szpilki) do wielkości równej lub większej kolonii wytwarzanych przez paciorkowce grupy A, zazwyczaj mniejsze niż pneumokoki. Śluzowate, półprzezroczyste, lub błyszczące	Kolonie otoczone małą strefą hemolizy typu α lub brak hemolizy.
Gronkowce	Kolonie duże żółte lub białe do szarych	Hemoliza typu β lub brak hemolizy
Maczugowce	Kolonie małe do dużych, białe do szarych lub żółte	Kolonie, z lub bez strefy hemolizy
Enterobacterales	Kolonie średnie do dużych, szare	Kolonie z lub bez strefy hemolizy
<i>Candida</i> spp.	Kolonie małe, białe	-

W celu ostatecznej identyfikacji wyhodowanych drobnoustrojów, należy przeprowadzić dodatkowe badania i/lub testy identyfikacyjne przy użyciu innych metod wykorzystywanych w laboratorium.



Morfologia kolonii i sposób wzrostu drobnoustrojów na podłożu Columbia Agar +5% Sheep Blood

12. Kontrola jakości

Właściwości odżywcze podłoża należy kontrolować z użyciem szczepów odniesienia dających oczekiwane reakcje dodatnie. Badanie należy wykonywać używając czystych, świeżych hodowli szczepów odniesienia dających pożądane reakcje. Do przeprowadzenia kontroli jakości podłoża, należy użyć następujących szczepów odniesienia:

Szczep odniesienia:	Intensywność wzrostu:	Morfologia kolonii:	Rodzaj hemolizy:
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	dobry wzrost	duże, białe do szarych lub kremowe do żółtych	typu β
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	dobry wzrost	małe, białe do szarych,	typu β
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	dobry wzrost	bardzo drobne, płaskie, całobrzegie	typu α
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	dobry wzrost	Kolonie duże, płaskie, szare, gładkie, błyszczące	możliwa hemoliza typu β

Dopuszcza się stosowanie innych szczepów odniesienia zapewniających spójność pomiarową, zgodnie z procedurami i instrukcjami kontroli jakości obowiązującymi w laboratorium. Procedury kontroli jakości powinny spełniać wymagania obowiązujących przepisów oraz wytycznych/rekomendacji.

13. Ograniczenia metody

- Z powodu zmienności wymagań odżywczych, niektóre szczepy mogą rosnać słabo, albo nie rosnać wcale na podłożu Columbia Agar +5% Sheep Blood
- W zależności od pochodzenia zastosowanej krwi, paciorkowce z grupy D mogą wykazywać różne reakcje hemolityczne. Na podłożach zawierających krew końską, króliczą i ludzką wytwarzają hemolizę typu β , zaś na podłożach z krwią baranią hemolizę typu α .
- Na reakcję hemolityczną paciorkowców β -hemolizujących mogą wpływać warunki inkubacji. Zaleca się inkubację w warunkach zwiększonego stężenia CO₂ (5-10%) zgodnie z procedurami określonymi przez laboratorium.
- Podłoże charakteryzuje się względnie wysoką zawartością węglowodanów, co powoduje, że paciorkowce β -hemolizujące mogą wykazywać reakcję hemolityczną o zielonkawym zabarwieniu, niekiedy mylnie interpretowaną jako hemoliza typu alfa.
- Podłoże nie zawiera czynnika V (dinukleotyd nikotynamidoadeninowy, NAD), ponieważ krew owiec zawiera NADazę, która niszczy NAD. Z tego powodu *Haemophilus influenzae*, który do wzrostu wymaga zarówno czynnika X, jak i czynnika V, nie będzie rósł na tym podłożu.
- Na podłożu mogą rosnać drożdżaki i grzyby

14. Charakterystyka metody

W 1966 roku Ellner wraz ze współpracownikami przedstawili wieloskładnikowe podłoże z krwią, na którym dzięki hydrolizatowi kazeiny i peptonom uzyskano szybszy i obfity wzrost drobnoustrojów, silniejszą i bardziej jednoznaczną reakcję hemolizy, a także bardziej typową morfologię kolonii z lepszym wybarwieniem. Columbia Agar z krwią oraz dodatkami witaminy K i heminy jest uniwersalnym podłożem wykorzystywanym do izolacji i hodowli wszystkich klinicznie istotnych beztlenowców i fakultatywnych beztlenowców. Pożywką ta jest podłożem zalecanym do wykrywania rzadziej występujących bakterii, np. *Bartonella bacilliformis* wywołujących chorobę Carrióna. Podłoże to jest wykorzystywane także do określenia typu hemolizy mikroorganizmów, co ma znaczenie we wstępnej identyfikacji niektórych grup bakterii chorobotwórczych, szczególnie z rodzaju *Streptococcus*. Na podłożu tym można wykonywać niektóre testy diagnostyczne. Jednak w celu właściwej identyfikacji wyhodowanych drobnoustrojów należy wykonać odpowiednie badania identyfikacyjne przy użyciu czystych hodowli.

15. Postępowanie ze zużytymi podłożami

Podłoża po badaniach oraz nieużyte podłoża należy utylizować zgodnie z aktualnie obowiązującymi przepisami dotyczącymi postępowania z odpadami medycznymi oraz procedurami laboratorium odnośnie utylizacji materiałów zakaźnych i potencjalnie zakaźnych.

16. Zgłaszanie zdarzeń niepożądanych

Zgodnie z obowiązującymi przepisami, zdarzenia niepożądane i incydenty, które można bezpośrednio powiązać z opisywanym podłożem, należy zgłaszać producentowi oraz Prezesowi Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych na adres:

Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych
Al. Jerozolimskie 181C, 02-222 Warszawa;
Telefon: 48 22 492-11-00
Fax: 48 22 492-11-09

17. Piśmiennictwo



1. MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, edited by Mauch, H., R. Lüttken, and S. Gatermann for the Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Volumes 3, 6, and 7. Urban & Fischer, Munich, Germany.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. MacFaddin, J. F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 86-92. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.










Historia zmian dokumentu

Data zmiany	Sekcja	Opis zmiany
2022/04/13	Cały dokument	Dostosowanie do wymagań Rozporządzenia UE 2017/746

UWAGA

Historia zmian dokumentu nie uwzględnia zmian redakcyjnych.

SYMBOL	NAZWA SYMBOLU	OPIS	NR REF.
	Wytwórca	Oznacza wytwórcę wyrobu medycznego zgodnie z definicją zawartą w dyrektywach unijnych 90/385/EWG, 93/42/EWG oraz 98/79/WE.	5.1.1
	Data produkcji	Oznacza datę produkcji wyrobu medycznego.	5.1.3
REF	Numer katalogowy	Oznacza numer produktu w katalogu producenta pozwalający zidentyfikować wyrób medyczny.	5.1.6
LOT	Numer serii / kod partii	Oznacza nadany przez producenta numer partii pozwalający zidentyfikować partię produktów, do której należy wyrób medyczny.	5.1.5
IVD	Wyrób do diagnostyki in vitro	Oznacza wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki in vitro	5.5.1

	Nie używać повторно	Oznacza wyrób medyczny przeznaczony do jednokrotnego użytku lub do użytku podczas leczenia jednego pacjenta w ramach jednej procedury medycznej.	5.4.2
	Wystarczy na wykonanie <n> testów	Oznacza nadaną przez producenta wartość na ile testów wystarczy wyrób.	5.5.5
	Data przydatności do użycia	Oznacza datę, po której wyrób medyczny nie powinien być używany.	5.1.4
	Przestrzegać zakresu temperatury	Wskazuje maksymalną i minimalną wartość temperatury, w której należy przechowywać, transportować lub użytkować przedmiot.	5.3.7
	Symbol bezpieczeństwa (Zgodność z wymogami UE)	Oznaczenie CE na produkcie stanowi deklarację producenta potwierdzającą zgodność produktu z zasadniczymi wymogami odpowiednich przepisów Unii Europejskiej dotyczących zdrowia, bezpieczeństwa i ochrony środowiska.	nd.
	Sprawdź w instrukcji użycia	Oznacza konieczność zapoznania się z instrukcją użytkowania	5.4.3
	Sterylizowany aseptycznymi technikami przetwarzania	Wskazuje wyrób medyczny, który został wytworzony za pomocą zaakceptowanych technik aseptycznych.	5.2.2
	Nie używać w przypadku uszkodzonego opakowania	Oznacza wyrób medyczny, który nie powinien być używany, jeśli opakowanie zostało uszkodzone lub otwarte.	5.2.8
	Zawiera materiał biologiczny pochodzenia zwierzęcego	Oznacza wyrób medyczny zawierający materiał biologiczny tj. tkanki, komórki lub ich pochodne pochodzenia zwierzęcego.	5.4.8