

**Columbia Agar (COLUMBIA-D)**

IVD

**Колумбийский агар**

Среда для выделения прихотливых микроорганизмов

**КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ**

Колумбийский агар подходит для выделения всех микроорганизмов, которые могут присутствовать в образцах различного происхождения (4).

Для культивирования прихотливых микроорганизмов в колумбийский агар можно добавлять баранью или лошадиную кровь (2, 6).

Добавление крови в агар позволяет определить тип гемолиза – один из основных ориентировочных тестов при идентификации бактерий (1, 3).

**ПРИНЦИП**

Основу среды составляет смесь пептонов, разработанная специально для прихотливых микроорганизмов.

В колумбийский агар можно добавлять различные антибиотики для придания селективных свойств (1).

**СОСТАВ НАБОРА**

<b>Сухая среда</b>
REF 51 026 500 г флакон

**СОСТАВ**

Расчетная формула после растворения

Состав среды можно модифицировать в соответствии с объектами и целями исследования:

Пептон и казеин (бычья или свиные).....	10 г
Гидролизированные животные белки (бычья или свиные).....	10 г
Пептон (бычья или свиное сердце).....	3 г
Кукурузный крахмал.....	1 г
Натрия хлорид.....	5 г
Агар.....	13.5 г
Дистиллированная вода.....	1 л

pH 7.3

**НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР**

- Автоклав.
  - Автоклавируемые пробирки.
  - Автоклавируемые флаконы.
  - Стерильные чашки Петри.
  - Водяная баня.
  - Генераторы атмосферы и контейнеры для инкубации (или анаэроустат).
  - Термостат.
- Или
- Терморегулируемый анаэроустат

**ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАКТИВЫ**

- Дефибрированная баранья кровь (Ref. 55 822 или 55 823).
- Дефибрированная лошадиная кровь (Ref. 55 832 или 55 833).
- Селективная смесь ANC (Ref. 55 673).
- Селективная смесь Campylosel (Ref. 55 712).
- Селективная смесь Clostridium difficile (Ref. 55 691).

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

- **Только для диагностики *in-vitro*.**
- **Только для профессионального использования.**
- Данный набор содержит вещества животного происхождения. Сертификат происхождения и/или санитарного состояния животных не гарантирует отсутствия трансмиссивных патогенных агентов. Обращайтесь как с потенциально опасными и в соответствии с принятыми нормами (не вдыхать, не глотать).
- При работе с образцами и микробными культурами необходимо соблюдать стерильность в соответствии с "CLSI/NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers From occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – Последнее издание". За дополнительной информацией обращайтесь к "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Последнее издание", а также нормативам, принятым в Вашей стране.
- Не используйте среды в качестве компонентов и сырья для производства.
- Не используйте реактивы по истечении срока годности.
- Не используйте среду при наличии комков и других включений.
- При вскрытии флакона убедитесь в целостности пробки.
- Тщательно закрывайте флаконы после использования.
- Не открывайте флаконы во влажной атмосфере (пар, испарения ...).
- При работе следуйте инструкции. Любые изменения описанной процедуры могут привести к искажению результатов.
- При интерпретации результатов принимайте во внимание анамнестические данные пациента, источник образца, морфологию колоний, данные микроскопии, а также результаты других тестов.

**ХРАНЕНИЕ**

- **Хранить флаконы при 2-30°C до истечения срока годности.**
- Беречь от влаги.
- Держать тщательно закрытыми.
- Не открывать флакон более 10 раз.

**ОБРАЗЦЫ**

Среда предназначена для работы с любыми образцами. Образцы не требуют обработки и дополнительной подготовки.

Соблюдайте правила забора, транспортировки и хранения образцов (6).

Данную среду можно использовать для выделения чистых культур.

**ПРИМЕНЕНИЕ****Подготовка:**

1. Растворите 42.5 г порошка в 1 литре дистиллированной или деминерализованной воды.
2. Тщательно перемешайте.
3. Доведите до кипения.
4. Разлейте по флаконам или пробиркам.
5. Автоклавируйте 15 минут при 118°C.
6. Оставьте при комнатной температуре минимум на 15 секунд, затем перенесите в термостатируемую водяную баню, установленную на 45-50°C. Оставьте при этой температуре вплоть до использования.
7. При автоклавировании во флаконах: разлейте по чашкам Петри (18-20 мл на чашку).  
При автоклавировании в пробирках: оставьте до застывания в наклонном положении.
8. Используйте после застывания.

**Внимание:** кровь и другие добавки следует добавлять стерильно после охлаждения расплавленного агара до 45-50°C (п. 6), как указано в инструкции к этим реактивам.

**Посев и культивирование:**

1. Произведите посев.
2. Поместите чашки в соответствующую атмосферу. При необходимости, используйте генераторы атмосферы (анаэробстат).
3. Культивируйте при 37°C (вверх дном для чашек Петри). Необходимо правильно выбрать условия культивирования, в соответствии с действующими рекомендациями и стандартами. Время инкубации зависит от типа образца и организма. Как правило, учет результатов производят через 24-48 часов культивирования. В некоторых случаях, следует продлить время культивирования.

**УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

- По окончании инкубации оцените бактериальный рост.
- Если среда с кровью, определите тип гемолиза (при его наличии):
  - α-гемолиз: зеленоватый ореол вокруг колонии.
  - β-гемолиз: зона лизиса вокруг или под колонией.
- Для идентификации пользуйтесь биохимическими и/или иммунологическими методами.

**Среда с добавками:**

См. инструкцию к соответствующим добавкам.

**КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА****Протокол:**

Для контроля качества рекомендуется использовать следующие штаммы:

Среда без добавок и крови:

- *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923

Среда с кровью:

- *Streptococcus pyogenes* ATCC® 19615 (культивируйте в атмосфере, обогащенной CO<sub>2</sub>).
- *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 6305 (культивируйте в атмосфере, обогащенной CO<sub>2</sub>).

**Результаты:**Среда без добавок и крови:

Рост за 24 часа при культивировании при 33-37°C.

Среда с кровью:

Штамм	Результат при 33-37°C	
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC® 19615	Рост за 24 часа	β гемолиз
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 6305		α гемолиз

Среда с добавками:

См. инструкцию к соответствующим добавкам.

**Примечание:**

Контроль качества следует проводить в соответствии с действующими нормами и положениями (частота, количество штаммов, температура...).

**ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА**

- Некоторые штаммы, имеющие специфические ростовые потребности (субстрат, температура, прочие условия культивирования), могут не образовать колоний на данной среде.
- Тип гемолиза зависит от видовой принадлежности и специфических характеристик штамма.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Среда без добавок и крови:

Было исследовано 14 бактериальных штаммов (10 штаммов неприхотливых грам(-), 4 штамма неприхотливых грам(+) бактерий) и 1 дрожжевой штамм (*Candida*). Культивирование осуществляли при 37°C.

#### Питательные качества среды:

Все штаммы образовали колонии за 24 часа.

### Среда с кровью (бараньей):

Было исследовано 27 бактериальных штаммов (8 штаммов стрептококков и пневмококков, 3 штамма *Listeria*, 3 штамма других грам(+) бактерий, 8 штаммов грам(-) бактерий и 5 штаммов анаэробных бактерий).

#### Питательные качества среды:

Все штаммы образовали колонии за 24 часа, кроме штаммов *Campylobacter* и *Clostridium difficile*, которые образовали колонии за 48 часов.

#### Гемолиз:

Через 24 часа был отмечен  $\alpha$  или  $\beta$  гемолиз, характерный для стрептококков и листерий.

### Среда с кровью (лошадиной):

Было исследовано 27 бактериальных штаммов (8 штаммов стрептококков и пневмококков, 3 штамма *Listeria*, 3 штамма других грам(+) бактерий, 8 штаммов грам(-) бактерий и 5 штаммов анаэробных бактерий).

#### Питательные качества среды:

Все штаммы образовали колонии за 24 часа, кроме штаммов *Campylobacter* и *Erysipelothrix insidiosa*, которые образовали колонии за 48 часов.

#### Гемолиз:

Через 24-48 часов был отмечен  $\alpha$  или  $\beta$  гемолиз, характерный для стрептококков и листерий.

### Среда с добавками:

См. инструкцию к соответствующим добавкам.

## УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Утилизируйте использованные и неиспользованные реактивы, а также контаминированные материалы в соответствии с требованиями, предъявляемыми для утилизации инфекционных материалов.

Сотрудники лаборатории несут ответственность за утилизацию отходов согласно типу и классу опасности и в соответствии с действующими правилами.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. DELMAS P., FRENEY J. – Les streptocoques. – *Lyon Pharm.*, 1989, vol. 40, n°5, p. 353-369.
2. ELLNER P.D., STOESEL C.J., DRAKENFORD E. and al. – A new culture medium for medical bacteriology - *Am. J. Clin. Pathol.*, 1966, vol. 45, p. 502 - 504.
3. FACKLAM R.R., PADULA J.F., MORTHAM E.C. and al. – Presumptive identification of group A, B, and D streptococci on agar plate media. – *J. Clin. Microbiol.*, 1979, vol. 9, n°6, p. 665-672.
4. FLANDROIS J.P., CHOMARAT M. – Bactériologie médicale pratique - MEDSI / Mac GRAW-HILL, 1989 – ISBN 2-86439-161-9.
5. MURRAY P.R., BARON E.J., PFALLER M.A. and al. - Manual of Clinical Microbiology - 6th Ed.- ASM Press, 1995 – ISBN 1-55581-086-1.
6. RODLOFF A.C., APPELBAUM P.C., ZABRANSKY R.J. - Cumitech 5A. Practical anaerobic bacteriology - American Society for Microbiology, 1991 – ISBN 1-55581-C05A.

## ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Символ	Обозначение
	Номер по каталогу
	Для диагностики in vitro
	Произведено
	Температурные ограничения
	Использовать до
	Номер партии
	Перед использованием прочтите инструкцию
	Беречь от влаги

ATCC является зарегистрированной (или находящейся в процессе регистрации) торговой маркой, принадлежащей American Type Culture Collection.



 **bioMérieux® SA**  
au capital de 12 029 370 €  
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France  
Тел. 33 (0)4 78 87 20 00  
Факс 33 (0)4 78 87 20 90  
<http://www.biomerieux.com>

  
Отпечатано во  
Франции

bioMérieux и логотип являются зарегистрированными (или находящимися в процессе регистрации) торговыми марками компании bioMérieux SA. Все права защищены.