

## **BD Mac Conkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)**

### **VERWENDUNGSZWECK**

**BD Mac Conkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)** (BD Mac Conkey II-Agar / Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut (Doppelplatte)) wird zur selektiven Isolierung von gramnegativen und grampositiven Bakterien aus klinischen Proben verwendet.

### **GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS**

Mikrobiologische Methode.

MacConkey-Agar ist eine der frühesten Rezepturen (veröffentlicht von MacConkey im Jahr 1900) zur Isolierung, Kultivierung und Identifizierung von *Enterobacteriaceae* und bestimmten nicht-fermentierende Mikroorganismen.<sup>1,2</sup> Später wurde das Medium mehrfach modifiziert.<sup>3,4</sup>

MacConkey-Agar ist nur schwach selektiv, da die Konzentration an Gallensalzen, welche die grampositiven Mikroorganismen hemmen, im Vergleich zu anderen enterischen Plattenmedien niedrig ist. Dieses Medium wird zur Verwendung mit klinischen Proben empfohlen, welche mit hoher Wahrscheinlichkeit eine gemischte mikrobielle Flora enthalten, wie z.B. Urin, Respirationsproben, Wundproben oder andere, da es eine Vorgruppierung von enterischen und anderen gramnegativen Bakterien in Lactose-fermentierende und nicht Lactose-fermentierende erlaubt.<sup>4-6</sup> MacConkey-Agar wird auch zur mikrobiologischen Untersuchung von Lebensmitteln verwendet.<sup>7</sup>

Die MacConkey II-Agar-Rezeptur wurde im Jahr 1987 konzipiert, um die Hemmung von schwärmenden *Proteus* Spezies zu verbessern und damit eine entgültigere Differenzierung von Lactose-fermentierenden und nicht Lactose-fermentierenden Bakterien und ein überlegenes Wachstum von enterischen Bakterien zu erreichen. In MacConkey II-Agar liefern Peptone die Nährstoffe. Kristallviolett wird beigefügt, um grampositive Bakterien, besonders Enterokokken und Staphylokokken, zu hemmen. Die Differenzierung von enterischen Mikroorganismen wird durch die Kombination von Lactose und Neutralrot als pH-Indikator erreicht. Farblose oder rosa bis rote Kolonien werden je nach Fähigkeit des Isolats, Kohlenhydrat zu fermentieren, gebildet.<sup>4</sup>

Ellner et al. berichteten 1966 über die Entwicklung einer neuen Blutagar-Zusammensetzung, die als Columbia Agar bezeichnet wurde.<sup>8</sup> Dieses Medium, das größere Kolonien und ein ausgeprägteres Wachstum erzielt als vergleichbare Blutagar-Medien, wird für Kulturmedien, die Blut enthalten, und für selektive Zusammensetzungen verwendet. Ellner et al. entdeckten, dass ein Medium mit 10 mg Colistin und 15 mg Nalidixinsäure je Liter in Columbia-Agar-Basis, angereichert mit 5 % Schafblut, das Wachstum von Staphylokokken, hämolytischen Streptokokken und Enterokokken unterstützt und gleichzeitig das Wachstum von *Proteus*-, *Klebsiella*- und *Pseudomonas*-Spezies hemmt.<sup>8,9</sup>

Columbia-Agar ist ein nährstoffreiches Basismedium. Durch den Zusatz der Antibiotika Colistin und Nalidixinsäure ist das Medium selektiv für grampositive Mikroorganismen, insbesondere Streptokokken und Staphylokokken. Das Schafblut erlaubt den Nachweis von hämolytischen Reaktionen.<sup>4,5,9</sup>

Die Kombination dieser beiden Medien auf einer Doppelplatte wird zur selektiven Isolierung von gramnegativen und grampositiven Bakterien aus klinischen Proben verwendet.

## REAGENZIEN

### BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)

Zusammensetzungen\* pro Liter destilliertem Wasser

MacConkey-II-Agar		BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood	
Pankreatisch abgebaute Gelatine	17,0 g	Peptone	20,0 g
Pankreatisch abgebautes Casein	1,5	Hefeextrakt	3,5
Peptisch abgebautes Tiergewebe	1,5	Tryptisch abgebautes Rinderherz	3,0
Lactose	10,0	Maisstärke	1,0
Gallensalze	1,5	Natriumchlorid	5,0
Natriumchlorid	5,0	Colistin	0,01
Neutralrot	0,03	Nalidixinsäure	0,015
Kristallviolett	0,001	Agar	15,0
Agar	13,5	Defibriniertes Schafblut	5 %
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

\*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

## VORSICHTSMASSNAHMEN

**IVD** . Nur für den professionellen Gebrauch.

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

## LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

## QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Platten 24 h bei 35 - 37 °C aerob inkubieren.

Stämme	MacConkey-II-Agar	BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gutes bis sehr gutes Wachstum; pinkfarbene bis rote Kolonien mit Galle-Präzipitaten	Vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Gutes bis sehr gutes Wachstum; beigefarbene bis bräunliche Kolonien, gehemmtes Schwärmen	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum; gehemmtes Schwärmen
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Gutes bis sehr gutes Wachstum; beigefarbene Kolonien	Nicht getestet
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Gutes bis sehr gutes Wachstum; beigefarbene Kolonien	Nicht getestet

Stämme	MacConkey-II-Agar	BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	(Teilweise bis) vollständig gehemmtes Wachstum	Gutes bis sehr gutes Wachstum; kleine graue Kolonien
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Vollständig gehemmtes Wachstum	Weißer bis gelbliche Kolonien mit Beta-Hämolyse
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Nicht getestet	Kleine gräuliche Kolonien; Beta-Hämolyse
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Nicht getestet	Kleine grüne bis graue Kolonien; Alpha-Hämolyse
Nicht inokuliert	Hellrosa, leicht opaleszierend	Rot (blutfarben)

## VERFAHREN

### Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

**BD Mac Conkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** (90 mm **Stacker-Doppelplatten**). Mikrobiologisch kontrolliert.

### Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

### Probenarten

Die Medien auf dieser Doppelplatte werden zur selektiven Isolierung von vielen gramnegativen und grampositiven Bakterien aus allen klinischen Probenarten verwendet (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

### Testverfahren

Probe möglichst bald nach Eingang im Labor ausstreichen. Diese Platte wird hauptsächlich zur Isolierung von Reinkulturen aus Proben mit einer gemischten Flora verwendet.

Um diese Doppelplatte mit Proben von Tupfern zu inokulieren, zuerst den Tupfer über einen kleinen Bereich Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut abrollen und danach über einen kleinen Bereich MacConkey-II-Agar. Die inokulierten Bereiche mit einer frischen Öse pro Material zur Isolierung ausstreichen. Platten 24 – 48 h bei  $35 \pm 2$  °C in Umgebungsluft inkubieren. Die Inkubation von MacConkey-Agar in einer mit Kohlenstoff angereicherten aeroben Atmosphäre wird nicht empfohlen.<sup>11</sup>

Da es grampositive und gramnegative Organismen gibt, welche auf beiden Medien gehemmt werden, ist es notwendig, eine nicht selektive Blut-Agar-Platte, z.B. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** mit einzubeziehen und sie 24 – 48 h bei  $35 \pm 2$  °C in einer mit Kohlendioxid angereicherten Atmosphäre aerob zu inkubieren.

### Ergebnisse

Das typische Wachstum auf **BD Mac Conkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Biplatte)** hat das folgende Erscheinungsbild:

Organismen	Mac Conkey II Agar	BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Rosafarben bis rosenrot (u.U. umgeben von einer Zone von Galle-Präzipitaten)	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Enterobacter</i>	Mucoid, rosafarben	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Klebsiella</i>	Mucoid, rosafarben	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Proteus</i>	Farblos, gehemmtes Schwärmen	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum; gehemmtes Schwärmen
<i>Salmonella</i>	Farblos	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Shigella</i>	Farblos	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Pseudomonas</i>	Unregelmäßige, farblos bis rosafarben	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
Staphylokokken	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum	Wachstum; weiße bis gelbe, kleine bis mittelgroße Kolonien, mit oder ohne Beta-Hämolyse.
Streptococci	Vollständig gehemmtes Wachstum	Wachstum; winzige bis mittelgroße Kolonien mit oder ohne Beta-Hämolyse
Enterokokken	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum	Wachstum; winzige bis mittelgroße Kolonien; möglicherweise mit gräulichen Rändern, gewöhnlich nicht hämolytisch

Weitere, nicht in der Tabelle aufgeführte gramnegative und grampositive Bakterien können auf diesen Medien ebenfalls ein Wachstum aufweisen. Detaillierte Informationen hierzu und zur Interpretation des Wachstums enthält die entsprechende Literatur.<sup>5,9</sup>

Weitere biochemische und, falls angezeigt, immunologische Tests unter Verwendung von Reinkulturen sind zur vollständigen Identifizierung der Isolate erforderlich.<sup>5,6,9</sup>

## LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

MacConkey-II-Agar ist eines der Standardmedien für das Anlegen primärer Plattenkulturen von klinischen Proben und verschiedenen nicht klinischen Materialien. Auf diesem Medium wachsen alle Organismen der *Enterobacteriaceae*-Familie sowie eine Vielzahl anderer gramnegativer Stäbchen, z.B. *Pseudomonas* und verwandte Genera.<sup>5-7,9</sup> Nicht-fermentierende Bakterien oder andere für die selektiven Bestandteile suszeptible gramnegative Stäbchen wachsen nicht auf diesem Medium. Bevor das Medium für spezifische Organismen verwendet wird, sollten die jeweiligen Literaturhinweise konsultiert werden.<sup>5,9,10</sup>

Berichten zufolge wird das Wachstum von einigen *Enterobacteriaceae* und *Pseudomonas aeruginosa* auf MacConkey-Agar gehemmt, wenn in einer CO<sub>2</sub>-angereicherten Atmosphäre inkubiert wird.<sup>11</sup>

Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood ist ein Standard-Medium zur Isolierung und Kultivierung von zahlreichen aerob wachsenden grampositiven Mikroorganismen, z.B. Streptokokken, Staphylokokken, coryneforme Bakterien, *Listeria* spp, und andere.<sup>5,9</sup> Gramnegative Bakterien, die eine Resistenz gegen die selektiven Bestandteile aufweisen, können ebenfalls ein Wachstum auf diesem Medium aufweisen.

Das Wachstum von *Candida*-Spezies und anderen Pilzen wird auf diesem Medium nicht gehemmt.

Obwohl es sich hierbei um grampositive Bakterien handelt, wird das Wachstum aerober Sporenbildner wie beispielsweise *Bacillus* spp auf Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood unter Umständen gehemmt.

Es ist zu beachten, dass Columbia-Agar einen relativ hohen Kohlenhydratanteil aufweist, wodurch beta-hämolytische Streptokokken eine grünliche hämolytische Reaktion hervorrufen können, die fälschlicherweise als alpha-Hämolyse interpretiert werden kann.

Obwohl eine Vielzahl gramnegativer und grampositiver Bakterien auf einer der Medien dieser Doppelplatte, d.h. **BD Mac Conkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)**, Wachstum aufweisen kann, ist die Verwendung eines nicht selektiven Mediums zur Erstisolierung aller möglicherweise in der Probe vorhandenen Pathogene notwendig.<sup>10</sup> **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** ist ein häufig verwendetes, nicht selektives, primäres Plattenmedium, welches zu diesem Zweck benutzt werden kann. Zur Isolierung von anspruchsvollen Organismen, wie z.B. *Neisseria* oder *Haemophilus*, sollte ebenfalls eine Schokoladen-Agar-Platte, z.B. **BD Chocolate Agar (GC II Agar mit IsoVitaleX)** mit der Probe inokuliert werden, wenn ein Verdacht auf diese Organismen besteht.

Obwohl bestimmte diagnostische Tests direkt auf diesen Medien durchgeführt werden können, sind für eine vollständige Identifizierung der Isolate biochemische und, falls indiziert, immunologische Tests unter Verwendung von Reinkulturen erforderlich.

## LITERATUR

1. MacConkey, A.T. 1900. Note on a new medium for the growth and differentiation of the *Bacillus coli communis* and the *Bacillus typhi abdominalis*. The Lancet, Part II:20.
2. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg. 5:333-379.
3. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
5. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
6. Farmer, J.J., III. 2003. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup>ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup> edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.
8. Ellner, P.D., C.J. Stoessel, E. Drakeford, and F. Vasi. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. Am. J. Clin. Pathol. 45: 502-504.
9. 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.
10. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. 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.
11. Mazura-Reetz, G. T. Neblett, and J. M. Galperin. 1979. MacConkey Agar: CO<sub>2</sub> vs. ambient incubation. Abst. Ann. Mtg. American Society for Microbiology. C179.

## VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

### **BD Mac Conkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)**

Best.-Nr. 254447

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

## WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



### **BD Diagnostic Systems**

Tullastraße 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception\_Germany@europe.bd.com

**BD Diagnostic Systems Europe**

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company