

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

TILSIGTET BRUG

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) anvendes til mikrobiologisk urinalyse. CLED Agar er et differentielt kulturmedium, til brug ved isolering og optælling af bakterier i urin. MacConkey II Agar er et selektivt og differentielt medium til isolering og differentiering af *Enterobacteriaceae* samt en række andre Gram-negative stave fra kliniske og ikke-kliniske prøver.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

CLED Agar: I 1960 rapporterede Sandys om udviklingen af en ny metode til forebyggelse af sværmning af *Proteus* på faste medier ved at begrænse elektrolytterne i kulturmediet, hvilket senere blev modificeret flere gange til brug i urinkultur.¹⁻³ Det blev betegnet som et cystin-lactose-elektrolyt-fattigt (CLED) medium og rapporteret som værende ideelt til urinær bakteriologi. I CLED Agar udgør peptoner og okseekstrakt næringsstofferne. Lactose er en energikilde for organismer, som er i stand til at udnytte den ved hjælp af en mekanisme baseret på fermentering. Bromthymolblåt er en pH-indikator til differentiering af lactose-fermentorer og lactose-nonfermentorer. Organismer, som fermenterer lactose, sænker pH og ændrer farven på mediet fra grøn til gul. Cystin tillader væksten af "dværgkoloni"-coliformer.³ Elektrolytkilder reduceres for at minimere sværmning af *Proteus*-arter.

MacConkey II Agar: En af de første medieformuleringer til differentiering af *Enterobacteriaceae* blev udviklet af MacConkey og publiceret i 1900 og 1905.^{4,5} Denne formulering blev udviklet for at udnytte det forhold, at galdesalte udfældes med syrer, samt at visse enteriske mikroorganismer fermenterer lactose, mens andre ikke besidder denne egenskab. Senere er dette medie blevet modificeret flere gange.^{6,7}

MacConkey Agar er kun let selektivt, da koncentrationen af galdesalte, som hæmmer Gram-positive mikroorganismer, er lav i sammenligning med andre enteriske plademedier. Dette medium anbefales til brug med kliniske præparater, som sandsynligvis indeholder blandet mikrobiel flora, såsom urin og mange andre, fordi det muliggør en præliminær gruppering af *Enterobacteriaceae* og andre Gram-negative stave i lactose-fermentorer og lactose-nonfermentorer.⁷⁻¹⁰

MacConkey II Agar-formuleringen blev udviklet for at forbedre hæmningen af sværmende *Proteus*-arter, for at opnå en bedre differentiering af laktosefermentorer og nonfermentorer samt en bedre vækst.

I MacConkey II Agar udgør peptoner næringsstofferne. Krystalviolet hæmmer Gram-positive bakterier, især enterokokker og stafylokokker. Differentiering af enteriske mikroorganismer opnås ved kombinationen af lactose og den neutrale røde pH-indikator. Farveløse eller lyserøde til røde kolonier produceres, afhængigt af isolatets evne til at fermentere kulhydratet.

Tilstedeværelsen af CLED og MacConkey II Agar på denne dobbeltplade muliggør bestemmelse af samlet antal og isolering af Gram-positive and Gram-negative bakterier fra urinprøver.

REAGENSER

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Formel* pr. liter oprenset vand

CLED agar		MacConkey II Agar	
Pankreatisk fordøjelse af gelatine	4,0 g	Pankreatisk fordøjelse af gelatine	17,0 g
Pankreatisk fordøjelse af kasein	4,0	Pankreatisk fordøjelse af kasein	1,5
Okseekstrakt	3,0	Peptisk fordøjelse af animalsk væv	1,5
Lactose	10,0	Lactose	10,0
L-cystin	0,128	Galdesalte	1,5
Bromthymolblåt	0,02	Natriumchlorid	5,0
Agar	15,0	Neutral rød	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Krystalviolet	0,001
		Agar	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

*Justeret og/eller suppleret, som krævet for at opfylde funktionskriterierne.

FORHOLDSREGLER

Til in vitro-diagnostik **IVD**. Kun til professionel brug. ☒

Pladerne må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring, brud eller andre tegn på nedbrydning.

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Pladerne opbevares efter modtagelse i mørke ved 2 til 8 °C i deres originale hylsterindpakning indtil umiddelbart inden ibrugtagning. Undgå nedfrysning og overophedning. Pladerne kan inokuleres indtil udløbsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalede inkubationstider.

Plader fra åbnede stabler med 10 plader kan bruges i en uge, når de opbevares i et rent område ved 2 – 8 °C.

BRUGERKVALITETSKONTROL

Inokuler repræsentative prøver med de følgende stammer (se dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for at få detaljer). Inkubér pladerne ved 35 ± 2 °C i en aerob atmosfære. Undersøg plader efter 18 til 24 h for omfanget af vækst, pigmentering, kolonistørrelse og hæmning af *Proteus*-sværmning/spredning.

Stammer	CLED agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Vækst; kolonier gule; medium gult	Vækst; lyserøde kolonier
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Vækst; kolonier farveløse til blå; sværmning hæmmet; let spredning acceptabel	Vækst; farveløse til beige kolonier, sværmning hæmmet
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Vækst; kolonier farveløse til gule; medium gult	Hæmning delvis til fuldstændig
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Vækst; kolonier små, gule; medium gult	Hæmning delvis til fuldstændig
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Vækst; kolonier små, hvide til gullige; medium gult	Hæmning delvis til fuldstændig
Ikke-inokuleret	Grøn til blågrøn	Let lyserød, en smule opalagtig

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (90 mm dobbeltplader). Mikrobiologisk kontrolleret.

Materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpekulturmедier, reagenser og laboratorieudstyr som påkrævet.

Præparattyper og prøvetagning

Dette medium bruges udelukkende til optælling og differentiering af bakterier i urin. Midtstråle- eller kateterurin eller urin indsamlet via suprapubisk blærepunktur kan anvendes (se også **FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**). Overhold aseptiske teknikker ved indsamling af urinprøver. Urin skal udstryges direkte på mediet højst 2 timer efter indsamling eller opbevares i køleskab (i højst 24 timer) for at undgå overvækst af de smittefarlige stoffer eller kontaminanter inden inokulering af dette medium.⁸⁻¹¹

Testprocedure

Tag en prøve af den ufortyndede, godt blandede urin ved hjælp af en kalibreret podenål (0,01 eller 0,001 mL) for hvert af de to medier på denne dobbeltplade. Sørg for, at podenålen fyldes korrekt med præparatet. Udstryg først en prøve af urinen på CLED Agar, og udstryg derefter den anden prøve på MacConkey II Agar. Inokuler pladerne aerobt ved 35 ± 2 °C i 24 til 48 t. De må ikke inokuleres i en CO₂-beriget aerob atmosfære!

Beregning og tolkning af resultater

Tæl antallet af kolonier (CFU) på pladen. Hvis der blev anvendt en 0,01 mL podenål, repræsenterer hver resulterende koloni 100 CFU/mL; hvis der blev anvendt en 0,001 mL podenål, svarer hver koloni til 1000 CFU/mL urin.⁸

Midtstråle- og kateterurin: I henhold til aktuelle retningslinjer for et enkelt isolat indikerer en densitet på $\geq 10^5$ CFU/mL infektion, $<10^5$ CFU/mL indikerer urethral- eller vaginal kontaminering og en densitet fra 10^4 til 10^5 CFU/mL skal resultatet evalueres igen baseret på kliniske oplysninger.⁸⁻¹¹

Urin indsamlet via suprapubisk blærepunktur: Da blæren er steril hos ikke-inficerede personer, angiver enhver påvist CFU en infektion.

Patogener i urin vil normalt give høje tællinger med ensartet kolonimorfologi, mens kontaminerende bakterier normalt forekommer normalt i lave antal og med varierende kolonimorfologi. Mens CLED Agar muliggør vækst af Gram-positive og Gram-negative bakterier, hæmmes Gram-positive bakterier delvist til fuldstændigt på MacConkey II Agar.

Vækst på MacConkey II Agar-medium indikerer tilstedeværelse af Gram-negative stave, f.eks. *Enterobacteriaceae* (som *E. coli* og mange andre).

CLED og MacConkey II Agar muliggør kun en tentativ differentiering af kolonier i henhold til lactose-fermentering. For at kunne sikre en fuldstændig identifikation og til bestemmelse af den antimikrobielle følsomhed skal der udføres yderligere tests.¹⁰⁻¹²

Typisk kolonimorfologi på **BD CLED Agar / MacConkey II Agar(Biplate)** er som følger:

Organismer	CLED agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Gule kolonier, uigennemsigtige; gult medium	Vækst; lyserøde kolonier
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Gule til hvidlige-blå kolonier, ofte slimagtige; gulligt medium	Slimagtige, lyserøde kolonier
<i>Proteus</i>	Gennemsigtige blå kolonier; blågrønt til blå medium	Vækst; farveløse til beige kolonier, sværmning hæmmet
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Grønne kolonier med typisk mat overflade og grov perifer; blå medium	Uregelmæssige, farveløse til lyserøde kolonier
Enterokokker	Små, gule kolonier, gult medium	Hæmning delvis til fuldstændig
<i>Staphylococcus aureus</i>	Mørkegule kolonier, ensartet i farve; gult medium	Hæmning delvis til fuldstændig
Koagulase-negative stafylokokker	Lysegule kolonier, mere uigennemsigtige end enterokokker	Hæmning delvis til fuldstændig

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

CLED Agar er egnet til isolering og tælling af mange aerobt voksende mikroorganismer, som f.eks. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* og andre ikke-fermenterende Gram-negative stave, enterokokker, stafylokokker, *Candida*-arter og mange andre fra urinpræparater.

Streptokokker og andre organismer, som kræver blod eller serum til vækst, kan muligvis kun restitueres utilstrækkeligt på dette medium eller kræver måske forlænget inkubation. Præparatet bør derfor også dyrkes på en blodagarplade, hvis sådanne organismer forventes.

Genitourinære patogener som f.eks. *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* eller andre kræse organismer vokser ikke på dette medium. Se litteraturen for information om passende påvisningsteknikker for disse organismer.^{9,10,12}

Selvom en differentiering i henhold til lactose-fermentering og visse andre diagnostiske test kan udføres direkte på dette medium, skal biokemisk og, hvis dette er indiceret, immunologisk testning med rene kulturer udføres, hvis det er nødvendigt for at opnå fuldstændig identifikation.¹⁰⁻¹²

MacConkey II Agar er ét de standardmedier, der anvendes til primær udpladning af kliniske prøver og til en lang række ikke-kliniske materialer. På dette medium vil organismer af *Enterobacteriaceae*-familien og en lang række andre Gram-negative stave som f.eks. *Pseudomonas* og relaterede slægter vokse. Nonfermentorer vokser på dette medium, hvis de er resistente over for dets selektive ingredienser. Der henvises til de respektive kapitler i litteraturhenvisningerne før anvendelse af dette medium til specifikke organismer.^{8,10}

Det er rapporteret, at visse *Enterobacteriaceae* og *Pseudomonas aeruginosa* hæmmes på MacConkey Agar, når de inkuberes i en CO₂-beriget atmosfære.¹³

Selvom visse diagnostiske test kan udføres direkte på dette medium, er biokemisk og, hvis det angives, immunologisk testning med rene kulturer nødvendig for at opnå fuldstændig identifikation. Der henvises til relevant litteratur.^{8,10,12}

LITTERATUR

1. Sandys, G.H. 1960. A new method of preventing swarming of *Proteus* sp. with a description of a new medium suitable for use in routine laboratory practice. *J. Med. Lab. Technol.* 17:224-233.
2. Mackey, J.P., and G.H. Sandys. 1965. Laboratory diagnosis of infection of the urinary tract in general practice by means of a dip-inoculum transport medium. *Br. Med. J.* 2:1286-1288.
3. Mackey, J.P., and G.H. Sandys. 1966. Diagnosis of urinary infections. *Br. Med. J.* 1:1173.
4. 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.
5. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. *J. Hyg.* 5:333-379.
6. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
7. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. 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. Tenenbaum (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Gattermann, S., et al. 1997. Harnwegsinfektionen. In: Mauch, H, et al. (ed.). *MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologischen Diagnostik*, vol. 2. Fischer Verlag, Stuttgart, Jena.
10. Gallien, R. 1988. Mikrobiologische Diagnostik in der ärztlichen Praxis – ein Leitfaden. Fischer Verlag, Stuttgart.
11. Clarridge, J.E., M.T. Pezzlo, and K.L. Vosti. 1987. Cumitech 2A, Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Coordinating ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO₂ vs. ambient incubation, abstr. C 179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.

EMBALLERING/BESTILLING

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Kat. nr. 257562 Klar til brug plademedier, 20 plader
Kat. nr. 257680 Klar til brug plademedier, 120 plader



Becton Dickinson GmbH
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

<http://www.bd.com>
<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD

Se afsnittet "References" i den engelske tekst.
Kun til professionel brug
BD Diagnostics Teknisk service og support: Kontakt den lokale BD-repræsentant.