

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

SIHTOTSTARVE

Söödet **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** kasutatakse mikrobioloogilise uriini analüüsis. CLED Agar on diferentseeriv kultuursööde, mida kasutatakse uriinis leiduvate bakterite isoleerimiseks ja loendamiseks. MacConkey II Agar on selektiivne ja diferentseeriv sööde bakteri *Enterobacteriaceae* ja mitmete teiste gramnegatiivsete kepikete isoleerimiseks ja eristamiseks kliinilistes ja mittekliinilistes proovides.

PROTSEDUURI PÕHIMÕTTED JA SELGITUS

Mikrobioloogiline meetod.

CLED Agar. 1960-ndatel teatas Sandys sellise uue meetodi väljatöötamisest, mis takistab bakteri *Proteus* vohamist tahkes aines, piirates elektrolüüte kultuursöötmes, mida muudeti hiljem mitu korda uriinikülvis kasutamiseks.¹⁻³ See määrati tsüstiini-laktoosi-elektrolüüdi-puudulikuks (CLED) aineks ja nimetati ideaalseks kuseteede bakterioloogias kasutamiseks. CLED Agaris on toitaineteks peptoonid ja veiseliha ekstrakt. Laktoos on energiaallikas organismidele, mis on võimelised seda kasutama fermentatiivse mehhanismiga. Bromotümoosiniline on pH-indikaator laktoosifermenterite eristamiseks laktoosi mittefermenterivatest bakteritest. Laktoosi fermenteerivad organismid alandavad pH-d ja muudavad aine värvi rohelisest kollaseks. Tsüstiin aktiveerib „kääbuste koloonia” kolibakterite kasvu.³ Elektrolüüdi allikaid vähendatakse, et minimeerida *Proteusi* liikide vohamist.

MacConkey II Agar. Ühe kõige esimestest bakteri *Enterobacteriaceae* eristamiseks mõeldud söötmekoostistest töötas välja MacConkey ja see avaldati 1900. ja 1905. aastal.^{4,5} See koostis töötati välja teadmisega, et happed sadestavad sapphappe soolasid ja teatud enteeriilised mikroorganismid fermenteerivad laktoosi, samas kui teistel seda omadust ei ole. Seda söödet on hiljem mitmeid kordi muudetud.^{6,7}

MacConkey Agar on ainult veidi selektiivne, sest grampositiivseid mikroorganisme inhibeerivate sapphappe soolade kontsentratsioon on teiste enteeriiliste söötmeplaatidega võrreldes madal. Seda söödet on soovitatav kasutada kliiniliste proovidega, mis sisaldavad tõenäoliselt segamikroobset floorat, nt uriin ja paljud muud proovid, sest see võimaldab bakterit *Enterobacteriaceae* ja teisi gramnegatiivseid kepikesi grupeerida esialgu laktoosifermenteriteks ja laktoosi mittefermenterivateks bakteriteks.⁷⁻¹⁰

MacConkey II Agar töötati välja *Proteusi* liikide kiire kasvu inhibeerimise parandamiseks, et laktoosifermentereid ja laktoosi mittefermenterivaid baktereid paremini eristada ja kasvatada. Söötmes MacConkey II Agar on toitaineteks peptoonid. Kristallviolett inhibeerib grampositiivseid baktereid, eriti enterokokki ja stafülokokki. Enteeriilisi mikroorganisme eristatakse tänu laktoosi ja neutraalpunase pH indikaatori kombinatsioonile. Värvitud või roosad kuni punased kolooniad arenevad olenevalt isolaadi võimest süsivesikut fermenteerida.

CLED-i ja MacConkey II Agari olemasolu selles biplate'is võimaldab grampositiivsete ja gramnegatiivsete bakterite koguarvu ja isolatsiooni määramist uriiniproovides.

REAGENDID

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Valem* liitri puhastatud vee kohta

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Pankrease ensüümidega töödeldud	4,0 g	Pankrease ensüümidega töödeldud žela	17,0 g
Pankrease ensüümidega töödeldud	4,0	Pankrease ensüümidega töödeldud kase	1,5
Veise ekstrakt	3,0	Maoensüümidega töödeldud loomne kud	1,5
Laktoos	10,0	Laktoos	10,0
L-tsüstiin	0,128	Sapphappe soolad	1,5
Broomtümoosinine	0,02	Naatriumkloriid	5,0
Agar	15,0	Neutraalpunane	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Kristallviolett	0,001
		Agar	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

*Vajaduse korral kohandatud ja/või täiendatud toimingute kriteeriumide järgi.

ETTEVAATUSABINÕUD

Kasutamiseks in vitro diagnostikas **IVD**. Ainult professionaalseks kasutamiseks. ☒
Ärge kasutage plaate, kui neil on näha mikrobioloogilise saastumise, värvimuutuse, kuivamise, mõranemise ilminguid või teisi riknemise tunnuseid.

SÄILITAMINE JA KÕLBIKKUSAEG.

Vastuvõtmisel säilitage söötmeplaate pimedas temperatuuril 2 kuni 8 °C originaalpakendis kuni vahetu kasutamiseni. Vältige külmutamist ja ülekuumenemist. Söötmeplaate võib inokuleerida kuni aegumiskuupäevani (vaadake pakendi silti) ja inkubeerida soovitatavate inkubatsiooniaegade jooksul.

Söötmeplaate avatud 10 plaadiga virnast võib kasutada ühe nädala jooksul, kui neid hoida puhtas kohas temperatuuril 2 kuni 8 °C.

KASUTAJA TEHTAV KVALITEEDIKONTROLL

Inokuleerige tüüpproove järgmiste tüvedega (üksikasju vaadake dokumendist **ÜLDISED KASUTUSJUHISED**). Inkubeerige söötmeplaate temperatuuril 35 ± 2 °C aeroobses keskkonnas.

Uurige plaate 18–24 tundi bakteri *Proteus* vohamise/leviku kasvu, pigmentatsiooni, koloonia suuruse ja inhibitsiooni suhtes.

Tüved	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Kasv; kolooniad kollased, sööde kollane	Kasv; roosad kolooniad
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Kasv; kolooniad värvitud kuni sinised, vohamine inhibeeritud; kerge levik aktsepteeritav	Kasv; värvitud kuni beežid kolooniad, vohamine inhibeeritud
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Kasv; kolooniad värvitud kuni kollased, sööde kollane	Osaline kuni täielik inhibitsioon
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Kasv; kolooniad väikesed, kollased; sööde kollane	Osaline kuni täielik inhibitsioon
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Kasv; kolooniad väikesed, valged kuni kollased; sööde kollane	Osaline kuni täielik inhibitsioon
Inokuleerimata	Roheline või sinakasroheline	Heleroosa, veidi sillerdav

PROTSEDUUR

Komplekti kuuluvad materjalid

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (90 mm Petri tass). Mikrobioloogiliselt kontrollitud.

Komplekti mittekuuluvad materjalid

Abistav kultuursööde, nõutavad reaktiivid ja laborivarustus.

Proovi tüübid ja proovide kogumine

Söödet kasutatakse ainult uriinis leiduvate bakterite loendamiseks ja eristamiseks. Kasutada võib keskjoa- või kateetriuriini või kusepõie suprapuubilisel punktsioonil kogutud uriini (vt ka **RESULTATIIVSUSE KARAKTERISTIKUD JA PROTSEDUURI PIIRANGUD**). Uriiniproovide kogumisel järgida aseptilisi tehnikaid. Uriin tuleb kanda otse söötmele (hiljemalt kahe tunni möödudes proovi võtmisest) või hoida külmkapis (mitte kauem kui 24 tundi), et vältida infektsioonitekitajate või kontaminantide ülekasvu enne sama söötme inokulatsiooni.⁸⁻¹¹

Katse protseduur

Võtke kalibreeritud külviaasa abil (0,01 või 0,001 mL) mõlema selle biplate'i söötme lahjendamata, hästi läbisegatud uriiniproov. Veenduge, et külviaasal on piisav kogus proovi. Esmalt külvake uriiniproov söötmele CLED Agar, seejärel teine proov söötmele MacConkey II Agar. Inkubeerige plaate 24 kuni 48 h jooksul aeroobselt 35 ± 2 °C juures. Ärge inkubeerige CO₂-ga rikastatud aeroobses atmosfääris.

Tulemuste tõlgendamine ja arvutamine

Lugege kokku plaadil olevate kolooniate (CFU) arv. 0,01 mL külviaasa kasutamisel esindab iga saadud koloonia 100 CFU/mL; kui kasutati 0,001 mL külviaasa, vastab igale kolooniale uriinis 1000 CFU/mL.⁸

Keskjoa- ja kateetriuriin: kehtivate juhiste järgi viitab iga üksik isolaat tihedusega $\geq 10^5$ infektsiooni olemasolule, $<10^5$ CFU/mL viitab uretraalsele või vaginaalsele kontaminatsioonile ja vahemik 10^4 kuni 10^5 CFU/mL tuleb kliinilise teabe põhjal ümber hinnata.⁸⁻¹¹

Suprapuubilisel põiepunktsioonil kogutud uriin: kuna kusepõis on nakkuseta isikutel steriilne, viitab igasugune kolooniate leid infektsioonile.

Kuseteede patogeeneid ilmuvad tavaliselt suures hulgas, olles sellel söötmel ühesuguse morfoloogiaga, samas kui kontaminatsiooni põhjustavad bakterid ilmuvad tavaliselt väikesearvuliste kolooniatena, mis on morfoloogiliselt varieeruvad.

Kui CLED Agar võimaldab grampositiivsete ja gramnegatiivsete bakterite kasvu, on grampositiivsed bakterid söötmes MacConkey II Agar osaliselt või täielikult inhibeeritud. Kasv söötmes MacConkey II Agar Medium näitab gramnegatiivsete kepikeste, nt bakteri *Enterobacteriaceae* olemasolu (nagu *E. coli* ja paljud teised).

CLED ja MacConkey II Agar lubavad laktoosi fermentatsiooni järgi ainult kolooniate oletuslikku eristamist. Antimikroobse tundlikkuse täielikuks tuvastamiseks ja määramiseks tuleb teha täiendavaid proove.¹⁰⁻¹²

Tüüpiline kolooniamorfoloogia söötmes BD **CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplat)** on järgmine.

Organismid	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Kollased kolooniad, läbipaistmatud; kollane sööde	Kasv; roosad kolooniad
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Kollased kuni valkjas-sinakad kolooniad, sageli mukoidsed; kollakas sööde	Mukoidsed, roosad kolooniad
<i>Proteus</i>	Poolläbipaistvad sinised kolooniad, sinakasroheline või sinine sööde	Kasv; värvitud kuni beežid kolooniad, vahamine inhibeeritud
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Rohelised kolooniad tüüpilise matistatud pinna ja töötlemata perifeeriaga; sinine sööde	Ebakorrapärased, värvitud või roosad kolooniad
Enterococci	Väikesed kollased kolooniad, kollane sööde	Osaline kuni täielik inhibitsioon
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sügavad kollased kolooniad, ühtlase värvusega; kollane sööde	Osaline kuni täielik inhibitsioon
Koagulaasi negatiivne stafülokokk	Kahvatud kollased kolooniad, rohkem läbipaistmatud kui enterokokid	Osaline kuni täielik inhibitsioon

RESULTATIIVSUSE KARAKTERISTIKUD JA PROTSEDUURI PIIRANGUD

CLED Agar sobib paljude selliste aeroobsetes tingimustes kasvavate mikroorganismide loendamiseks ja isoleerimiseks nagu *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* ja teised mittefermenteerivad gramnegatiivsed kepikesed, enterokokid, stafülokokid, *Candida* liigid ja paljud muud uriinis leiduvad patogeendid.

Streptokokke ja teisi kasvamiseks verd või seerumit vajavaid organisme ei saa selles söötmes piisaval hulgal taastada või vajavad need laiendatud inkubatsiooni. Seetõttu tuleb proov vereagari plaati ka kultiveerida, kui selliseid organisme võib leida.

Urogenitaalsed patogeendid, nagu *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma*, või muud nõudlikud organismid ei kasva selles söötmes. Vaadake nende organismide tuvastamiseks sobivate meetodite kohta vastavaid materjale.^{9,10,12}

Kuigi sellele söötmele saab teha laktoosi fermentatsiooni järgi eristamist ja kindlaid diagnostilisi katseid, tuleb lõplikuks määramiseks kasutada biokeemilisi katseid ja vajaduse korral immunoloogilisi katseid.¹⁰⁻¹²

MacConkey II Agar on üks standardsöötmetest, mida kasutatakse kliiniliste proovide ja mitmete mittekliiniliste materjalide peamise söötmeplaadina. Selles söötmes kasvavad kõik *Enterobacteriaceae* sugukonda kuuluvad organismid ja mitmed teised gramnegatiivsed kepikesed, nt *Pseudomonas* ja sellega seotud perekonnad. Selles söötmes kasvavad teatud valitud koostisosadele resistentsed mittefermenteerivad ained. Enne söötme kasutamist kindlate organismidega lugege vastavaid viidetes toodud peatükke.^{8,10}

On teatatud, et mõne bakteri *Enterobacteriaceae* ja *Pseudomonas aeruginosa* kasv on MacConkey Agaril inhibeeritud, kui inkubeeritakse CO₂-ga rikastatud keskkonnas.¹³

Kuigi sellele söötmele saab teha kindlaid diagnostilisi katseid, tuleb lõplikuks määramiseks kasutada biokeemilisi katseid ja vajaduse korral immunoloogilisi katseid. Tutvuge vastavate viidetega.^{8,10,12}

VIITED

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. Tenover (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 Leitfad. 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. Tenover (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.

PAKKIMISVIIS/KÄTTESAADAVUS

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Kat nr 257562

Kasutusvalmis plaatidel sööde, 20 plaati

Kat nr 257680

Kasutusvalmis plaatidel sööde, 120 plaati



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 on ettevõtte American Type Culture Collection kaubamärk.

BD, BD logo ja kõik muud kaubamärgid kuuluvad ettevõttele Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD

Inglisekeelse teksti jaoks vaadake jaotist „Viited”.

Ainult Rx

BD Diagnosticsi tehniline teenus ja tugi: võtke ühendust BD kohaliku esindajaga.