

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

HASZNÁLATI JAVASLAT

A **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** a vizelet mikrobiológiai vizsgálatára használható. A CLED Agar differenciáló tápközeg, amelyet a vizeletben található baktériumok elkülönítésére és azok számának megállapítására lehet használni. A MacConkey II Agar egy szelektív és differenciáló táptalaj az *Enterobacteriaceae* családba tartozó baktériumok és számos Gram-negatív pálcák klinikai és nem klinikai mintákból való izolálására és differenciálására.

AZ ELJÁRÁS MŰKÖDÉSI ELVE ÉS MAGYARÁZATA

Mikrobiológiai módszer.

CLED Agar: 1960-ban Sandys egy új módszert fejlesztett ki a *Proteus* baktériumok rajzásának meggátolására. Ennek a módszernek az alapja az elektrolitok számának korlátozása a tápközegben; a módszert később többször módosították a vizelettenyészetekben való használatra.¹⁻³ A cisztin-laktóz-elektrolit-deficiens (CLED) nevet kapta, és az eredmények szerint ideális a húgyúti bakterológiában való használatra.

A CLED Agar tápközegben húskivonat és peptonok biztosítják a tápanyagokat. A laktóz energiaforrást jelent olyan szervezetek számára, amelyek fermentációs mechanizmusuk révén fel tudják használni. A brómtimolkék egy pH-indikátor, amely megkülönbözteti a laktózt fermentálókat és a laktózt nem fermentálókat. A laktózt fermentáló szervezetek csökkentik a táptalaj pH értékét, és színét zöldről sárgára változtatják. A cisztin lehetővé teszi a koliformok „törpekolóniájának” növekedését.³ Az elektrolitforrásokat csökkentettük, hogy minimalizáljuk a *Proteus* fajok rajzását.

MacConkey II Agar: Az *Enterobacteriaceae* család differenciálását lehetővé tevő táptalaj egy egyik legkorábbi változatát MacConkey fejlesztette ki, és 1900-ban, majd 1905-ben publikálta.^{4,5} Formulája azon az ismereten alapszik, hogy az epesókat a savak kicsapják és, hogy egyes enterikus mikroorganizmusok fermentálják a laktózt, míg mások nem rendelkeznek ezzel a tulajdonsággal. A későbbiekben ezt a táptalajt számos alkalommal módosították.^{6,7}

A MacConkey Agar csak azóta szelektív, amióta a Gram-pozitív baktériumokat gátló epesók koncentrációját a többi enterikus szélesztő táptalajhoz képest csökkentették. Ezt a táptalajt olyan klinikai minták esetében tanácsos használni, melyek valószínűleg kevert baktériumflórát tartalmaznak, mint amilyen például a vizeletminták és még sok más minta, mivel ez lehetővé teszi a laktózt fermentálókon vagy a laktózt nem fermentálókon belüli *Enterobacteriaceae* és más Gram-negatív pálcák elsődleges csoportosítását.⁷⁻¹⁰

A MacConkey II Agar formuláját úgy fejlesztették ki, hogy gátolja a rajzó *Proteus* fajokat, ezzel még határozottabbá tegyék a laktózt fermentáló és nem fermentáló baktériumok differenciálását, valamint hatékonyabban szaporodjanak rajta az enterikus baktériumok.

A MacConkey II Agar tápközegben peptonok biztosítják a tápanyagokat. A kristályibolya gátolja a Gram-pozitív baktériumokat, különösen az enterococcusokat és a staphylococcusokat. Az enterikus mikroorganizmusok differenciálásáért a laktóz és a neutrálvíz pH-indikátor a felelős. A színtelen vagy rózsaszínű-piros telepek az izolátum szénhidrát fermentáló képessége szerint alakulnak ki.

A CLED és a MacConkey II Agar jelenléte ezen a kettős lemezen lehetővé teszi a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok differenciálását a vizeletmintákban.

REAGENSEK

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

1 liter szűrt vízre vonatkoztatott összetétel*

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Pankreatikusan emésztett zselatin	4,0 g	Pankreatikusan emésztett zselatin	17,0 g
Pankreatikusan emésztett kazein	4,0	Pankreatikusan emésztett kazein	1,5
Marhahúskivonat	3,0	Peptikusan emésztett állati szövetek	1,5
Laktóz	10,0	Laktóz	10,0
L-cisztin	0,128	Epesók	1,5
Brómtimolkék	0,02	Nátrium-klorid	5,0
Agar	15,0	Neutrál vörös	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Kristályibolya	0,001
		Agar	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

*Úgy beállítva és/vagy kiegészítve, hogy megfeleljen a teljesítménykövetelményeknek.

ÓVINTÉZKEDÉSEK

In vitro diagnosztizáláshoz **IVD**. Használata szakértelmet igényel. ②

Ne használja a lemezeket, ha azon mikrobiális szennyeződést, elszíneződést, kiszáradást és betöredezést, illetve a károsodás bármilyen más jelét észleli.

TÁROLÁS ÉS ELTARTHATÓSÁG

Átvétel után a felhasználásig a lemezeket sötét helyen, 2 – 8°C-on, az eredeti lezárt tasakban tárolja. Kerülni kell a lemezek megfagyását, illetve túlmelegedését. A lemezeket a lejáratú időn belül kell inokulálni (lásd a csomagolás címkéjét), és az előírt ideig kell inkubálni.

A felbontott 10-es csomagolás lemezeit tiszta helyen, 2 – 8°C-on kell tárolni, és egy héten belül fel kell használni.

FELHASZNÁLÓI MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Inokuláljon reprezentatív mintákat a következő törzsekkel (a részleteket lásd az **ÁLTALÁNOS HASZNÁLATI ÚTMUTATÓBAN**). Inkubálja a lemezeket 35 ± 2°C-on aerob körülmények között. 18-24 óra elteltével vizsgálja meg az összes lemezt a *Proteus* fajok rajzásának vagy terjedésének szaporodása, pigmentációja, a telepek mérete és a gátlás szempontjából.

Törzsek	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Szaporodás; sárga telepek; sárga táptalaj	Szaporodás; rózsaszínű telepek
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Szaporodás; színtelen-kék telepek; gátolt rajzás; kis terjedés elfogadható	Szaporodás; színtelen-drapp telepek, gátolt rajzás
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Szaporodás; színtelen-sárga telepek; sárga táptalaj	Gátlás: részlegestől a teljesig
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Szaporodás; kis sárga telepek; sárga táptalaj	Gátlás: részlegestől a teljesig
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Szaporodás; kis fehér-sárga telepek; sárga táptalaj	Gátlás: részlegestől a teljesig
Nem inokulált	Zöld-zöldeskék	Halvány rózsaszínű, kissé opálos

ELJÁRÁS

Szállított anyagok

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (90 mm-es kettős lemezek). Mikrobiológiailag ellenőrizve.

Nem szállított anyagok

Kiegészítő táptalajok, reagensek és laboratóriumi eszközök, az előírásoknak megfelelően.

A minták fajtái és a minták gyűjtése

Ezt a táptalajt kizárólag a vizeletben lévő baktériumok differenciálására és azok számának megállapítására lehet használni. Felhasználható középsugaras vagy katéterrel, illetve suprapubicus hólyagpunkcióval gyűjtött vizelet (lásd még: **TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK ÉS AZ ELJÁRÁS KORLATAI**). A vizeletminták begyűjtésénél dolgozzon aszeptikusan. Annak érdekében, hogy elkerülje a fertőző ágensek, illetve a szennyező mikroorganizmusok elszaporodását, a vizeletet közvetlenül a táptalajra kell széleszteni (a mintagyűjtést követő 2 órán belül) vagy mélyhűtve kell tárolni (legfeljebb 24 órán át).⁸⁻¹¹

A teszt kivitelezése

A hígítatlan, gondosan összekevert vizeletből egy kalibrált kacs (0,01 vagy 0,001 mL) segítségével vegyen mintát a kettős lemez mindkét tápközegéhez. Győződjön meg arról, hogy a kacs megfelelő mennyiségű mintát tartalmaz. Először szélesszen egy vizeletmintát a CLED Agar, majd a másik mintát a MacConkey II Agar tápközegre. Inkubálja a lemezeket aerob körülmények között 24–48 óráig $35 \pm 2^\circ\text{C}$ -on. Ne CO_2 -dúsított aerob körülmények között inkubálja a lemezeket!

Számítás és az eredmények értelmezése

Számolja meg a lemezen lévő telepeket (CFU). Amennyiben 0,01 mL-es kacsot használt, minden telep 100 CFU/mL vizelet jelent, míg egy 0,001 mL-es kacs esetében egy telep 1000 CFU/mL vizeletet jelent.⁸

Középsugaras és katéter vizelet: Az általánosan elfogadott irányelvek szerint egy izolátumból származó $\geq 10^5$ CFU/mL sűrűség fertőzésre, $<10^5$ CFU/mL uretális vagy vaginális fertőzésre utal, míg $10^4 - 10^5$ CFU/mL közötti sűrűség okát a klinikai adatok alapján újra kell értékelni.⁸⁻¹¹

Suprapubicus hólyagpunkcióval gyűjtött vizelet: Mivel a húgyhólyag a nem fertőzött egyedekben steril, bármekkora CFU fertőzésre utal.

A húgyúti rendszer patogén kórokozói általában nagy számban, egységes telepmorfológiával, míg a fertőző baktériumok általában kis számban és változó telepmorfológiával jelennek meg. Míg a CLED Agar lehetővé teszi a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok növekedését, a Gram-pozitív baktériumok részlegesen vagy teljesen gátoltak a MacConkey II Agar táptalajon. A MacConkey II Agar táptalajon való szaporodás Gram-negatív pálcák, így *Enterobacteriaceae* (pl. *E. coli*) baktériumok jelenlétét jelzi.

A CLED és az MacConkey II Agar csak a kolóniáknak az előzetes differenciálását teszi lehetővé a laktóz fermentációja alapján. A teljes azonosításhoz és az antibiotikum-érzékenység meghatározásához további tesztekkel kell végezni.¹⁰⁻¹²

A telepek jellegzetes morfológiája a BD **CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** terméken a következő:

Organizmus	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Sárga, átlátszatlan telepek, sárga táptalaj	Szaporodás; rózsaszínű telepek
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Sárga-fehéreskék, gyakran nyálkás telepek; sárgás táptalaj	Nyálkás, rózsaszínű telepek
<i>Proteus</i>	Átlátszó kék telepek; kékeszöld-kék táptalaj	Szaporodás; szintelen-drapp telepek, gátolt rajzás
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Zöld kolóniák jellegzetes matt felülettel és egyenetlen szélekkel; kék táptalaj	Szabálytalan, szintelen-rózsaszínű telepek
Enterococcusok	Kis sárga telepek; sárga táptalaj	Gátlás: részlegestől a teljesig
<i>Staphylococcus aureus</i>	Egyenletesen mélysárga telepek; sárga táptalaj	Gátlás: részlegestől a teljesig
Koaguláznegatív staphylococcusok	Világossárga telepek, átlátszatlanabb az enterococcusoknál	Gátlás: részlegestől a teljesig

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK ÉS AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

A **CLED Agar** számos aerob mikroorganizmus, mint az *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* és más nem fermentáló Gram-negatív pálcák, enterococcusok, staphylococcusok, *Candida* fajok és más, a vizeletben megtalálható baktériumok izolálására alkalmas.

A streptococcusok és más olyan organizmusok, amelyeknek vérre vagy szérumra van szükségük, elégtelenül mutathatók ki ezen a táptalajon, vagy hosszabb inkubációra lehet szükségük. Ezért a mintát véres agar lemezekben is tenyésztetni kell, ha ilyen organizmusokat vár.

A genitourinális patogének, pl *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* és más érzékeny organizmusok nem szaporodnak ezen a táptalajon. Ezeknek az organizmusoknak az észlelését illetően tanulmányozza át a szakirodalmat.^{9,10,12}

Bár a laktóz fermentációja alapján történő differenciálást és néhány diagnosztikai tesztet közvetlenül is el lehet végezni ezen a táptalajon, a teljes azonosításhoz biokémiai és, amennyiben ez előírt, immunológiai tesztek is tanácsos elvégezni tiszta tenyészeteken.¹⁰⁻¹²

A **MacConkey II Agar** egyike azoknak a standard táptalajoknak, melyeket klinikai minták és nem klinikai minták széles skálájának elsődleges szélesztéséhez alkalmaznak. Ezen a táptalajon az *Enterobacteriaceae* család tagjai és számos más Gram-negatív pálca, mint például a *Pseudomonas* és a kapcsolódó nemzetségek is szaporodnak. A nem fermentáló organizmusok akkor szaporodnak ebben a táptalajon, amennyiben rezisztensek a szelektív anyagokra. Az egyes mikroorganizmusokkal való használat előtt olvassa el a vonatkozó szakirodalmat.^{8,10}

Leírták, hogy egyes *Enterobacteriaceae* és a *Pseudomonas aeruginosa* baktériumok szaporodása gátolt a MacConkey Agar lemezen, ha az inkubálás CO₂-dúsított levegőben történik.¹³

Bár bizonyos diagnosztikai tesztek közvetlenül is el lehet végezni ezen a táptalajon, a teljes azonosításhoz tiszta tenyészetben kell elvégezni biokémiai és, amennyiben javallott, immunológiai tesztek is. További információkért tanulmányozza a vonatkozó szakirodalmat.^{8,10,12}

IRODALOMJEGYZÉK

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 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. 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.

CSOMAGOLÁS ÉS KISZERELÉSEK

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Katalógusszám: 257562 Használatra kész lemezes táptalajok, 20 darabos csomag

Katalógusszám: 257680 Használatra kész lemezes táptalajok, 120 darabos csomag



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/>

Az ATCC az American Type Culture Collection védjegye.

A BD, a BD embléma és minden más védjegy a Becton, Dickinson and Company tulajdona. © BD, 2016.

Lásd az angol nyelvű szöveg „References” (Irodalomjegyzék) című fejezetét.

Csak levelek fogadására használt cím

A BD Diagnostics műszaki támogatása és szervezete: forduljon a BD helyi képviselőjéhez.