

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

NAUDOJIMO PASKIRTIS

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) (BD CLED agaras / „MacConkey II“ agaras (dviguba lėkštelė) naudojamas mikrobiologiniams šlapimo tyrimams. „CLED Agar“ yra diferencinė mitybos terpė, naudojama bakterijoms iš šlapimo išskirti ir skaičiuoti. „MacConkey II Agar“ yra selektyvioji diferencinė terpė, naudojama *Enterobacteriaceae* ir įvairioms kitoms gramneigiamoms lazdelėms išskirti ir diferencijuoti klinikiniuose ir neklinikiniuose mėginiuose.

PROCEDŪROS PRINCIPAI IR PAAIŠKINIMAS

Mikrobiologinis metodas.

CLED Agar. 1960 m. Sandys pranešė apie naują metodą, užtikrinantį, kad *Proteus* nesusidrumstų ant kietos terpės ribojant mitybos terpėje esančius elektrolitus, kuri vėliau buvo modifikuota, kad būtų galima naudoti su šlapimo kultūromis.¹⁻³ Jis buvo pavadintas cistino laktozės elektrolito stokojančia (CLED) terpe ir apibūdintas kaip idealiai tinkantis šlapimo bakteriologiniams tyrimams.

„CLED Agar“ peptonai ir jautienos ekstraktas tiekia maistines medžiagas. Laktozė yra energijos šaltinis organizmams, galintiems panaudoti ją fermentinėse reakcijose. Bromtimolio mėlis yra pH indikatorius, padedantis atskirti laktozę fermentuojančius mikroorganizmus nuo nefermentuojančių. Laktozę fermentuojantys mikroorganizmai sumažins pH ir pakeis terpės spalvą iš žalios į geltoną. Cistinas leidžia augti mažoms koliforminių bakterijų kolonijoms.³ Elektrolitų šaltiniai yra sumažinti, kad būtų sumažintas *Proteus* rūšių drumstumas.

MacConkey II Agar. MacConkey sukūrė vieną iš pirmųjų *Enterobacteriaceae* išskyrimo terpių ir apie ją paskelbė 1900 m. bei 1905 m.^{4,5} Ši formulė buvo išvesta remiantis žiniomis, kad tulžies druskos yra precipituojamos rūgščių ir tam tikrų enterinių mikroorganizmų baltymų laktozės, o kiti mikroorganizmai šia ypatybe nepasižymi. Vėliau ši terpė buvo kelis kartus modifikuota.^{6,7} MacConkey agaras yra nedidelio selektyvumo, nes tulžies druskų, kurios stabdo gramteigiamų mikroorganizmų augimą, koncentracija yra nedidelė, palyginti su kitomis enterinėmis lėkštelių terpėmis. Ši terpė rekomenduojama naudoti su klinikiniais mėginiais, kuriuose greičiausiai bus mišri mikrobų flora, tokiais kaip šlapimo ir pan., nes ji leidžia preliminariai sugrupuoti *Enterobacteriaceae* ir kitas gramneigiamas lazdeles į laktozę fermentuojančius ir laktozės nefermentuojančius mikroorganizmus.⁷⁻¹⁰

„MacConkey II Agar“ formulė buvo sukurta siekiant pagerinti drumstų *Proteus* rūšių augimo apribojimą, kad būtų galima geriau diferencijuoti laktozę fermentuojančius ir nefermentuojančius mikroorganizmus bei užtikrinti geresnį enterinių bakterijų augimą.

„MacConkey II Agar“ peptonai tiekia maistines medžiagas. Kristalinis violetas apriboja gramteigiamų bakterijų, ypač enterokokų ir stafilokokų, augimą. Enterinių mikroorganizmų diferenciacija užtikrinama naudojant laktozę ir neutralų raudoną pH indikatorius. Atsižvelgiant į izoliato gebėjimą fermentuoti angliavandenilį, gaunamos bespalvės arba nuo rausvos iki raudonos spalvos kolonijos.

CLED ir „MacConkey II Agar“ šioje lėkštelėje leidžia nustatyti bendrą gramteigiamų ir gramneigiamų bakterijų skaičių ir išskirti jas šlapimo mėginiuose.

REAGENTAI

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Sudėtis* litre išgryninto vandens

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Kasos fermentais hidrolizuotas želatinas	4,0 g	Kasos fermentais hidrolizuotas želatinas	17,0 g
Kasos fermentais hidrolizuotas kazeinas	4,0	Kasos fermentais hidrolizuotas kazeinas	1,5
Jautienos ekstraktas	3,0	Pepsinu hidrolizuoti gyvūnų audiniai	1,5
Laktozė	10,0	Laktozė	10,0
L-cistinas	0,128	Tulžies druskos	1,5
Bromtimolio mėlis	0,02	Natrio chloridas	5,0
Agaras	15,0	Neutralus raudonis	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Kristalinis violetas	0,001
		Agaras	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

*Koreguojama ir (arba) papildoma pagal poreikį, kad atitiktų veikimo kriterijus.

ATSARGUMO PRIEMONĖS

Naudoti in vitro diagnostikai **IVD**. Skirta naudoti tik specialistams. Ⓢ

Nenaudokite lėkštelių, jei yra mikrobinės taršos, pakitusios spalvos, išdžiūvimo, įskilimo ar kitokių kokybės pablogėjimo požymių.

LAIKYMO SĄLYGOS IR TINKAMUMO LAIKAS

Gautas lėkštes iki pat naudojimo pradžios laikykite tamsioje vietoje 2 – 8 °C temperatūroje movos pavidalo gamintojo pakuotėje. Venkite užšaldymo ir perkaitinimo. Lėkštelėse galima sėti iki galiojimo laiko pabaigos (žr. etiketėje ant pakuotės), o jas inkubuoti – atsižvelgiant į rekomenduojamą inkubavimo laiką.

Atidarius 10 lėkštelių pakuotę švarioje aplinkoje 2 – 8 °C temperatūroje lėkštes galima laikyti iki vienos savaitės.

NAUDOTOJO ATLIEKAMA KOKYBĖS KONTROLĖ

Į pavyzdines lėkštes pasėkite šias padermes (smulkesnė informacija pateikiama

BENDROSIJOSE NAUDOJIMO instrukcijose). Inkubuokite lėkštes 35 ± 2 °C temperatūroje aerobinėje atmosferoje.

Po 18 – 24 val. patikrinkite lėkštes ir įvertinkite augimo mastą, pigmentaciją, kolonijų dydį ir *Proteus* drumstumo / pasiskirstymo slopinimą.

Padermės	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Augimas; geltonos kolonijos, geltona terpė	Augimas; rausvos kolonijos
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Augimas; bespalvės ar mėlynos spalvos kolonijos; ribotas drumstumas; priimtinas silpnas pasiskirstymas	Augimas, bespalvės ar šviesios smėlio spalvos kolonijos, ribotas drumstumas
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Augimas; bespalvės ar geltonos kolonijos; geltona terpė	Dalinis ar visiškas slopinimas
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Augimas; mažos geltonos kolonijos; geltona terpė	Dalinis ar visiškas slopinimas
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Augimas; mažos baltos ar gelsvos kolonijos; geltona terpė	Dalinis ar visiškas slopinimas
Nesėta	Žalios ar žaliai mėlynos spalvos	Šviesiai rausva, šiek tiek keičia spalvas

PROCEDŪRA

Tiekiamos medžiagos

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (90 mm dvigubos lėkštelės). Mikrobiologiškai kontroliuojama.

Netiekiamos medžiagos

Papildomos mitybos terpės, reagentai ir reikalinga laboratorinė įranga.

Mėginių tipai ir mėginių paėmimas

Ši terpė naudojama tik bakterijų iš šlapimo skaičiavimui ir išskyrimui. Tyrimui galima naudoti vidurinę šlapimo porciją, šlapimą iš kateterio ar šlapimą, gautą atlikus suprapubinę šlapimo pūslės punkciją (taip pat žr. **VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS IR PROCEDŪROS APRIBOJIMAI**). Imdami tirti šlapimo mėginius naudokite aseptinius būdus. Kad būtų išvengta infekcijas sukeliančių ar nepageidaujamų mikroorganizmų peraugimo, šlapimą reikia iš karto brūkšniais pasėti į terpę per 2 valandas po surinkimo arba laikyti atšaldytą (ne ilgiau kaip 24 valandas).⁸⁻¹¹

Tyrimo procedūra

Naudodami kalibruotą kilpelę paimkite neskiesto, gerai išmaišyto šlapimo mėginį (0,01 ar 0,001 mL) abiem šios dvigubos lėkštelės terpėms. Įsitikinkite, kad kilpelė tinkamai pripildyta mėginio. Pirmiausia pasėkite šlapimo mėginio ruoželį ant „CLED Agar“, tada antrą mėginį ant „MacConkey II Agar“. Lėkšteles inkubuokite aerobinėje aplinkoje 35 ± 2 °C temperatūroje 24 – 48 valandas. Neinkubuokite CO₂ papildytoje aerobinėje aplinkoje!

Apskaičiavimas ir rezultatų interpretavimas

Suskaičiuokite, kiek kolonijų (CFU) yra lėkštelėje. Jei buvo naudota 0,01 mL kilpelė, kiekviena kolonija atitinka 100 CFU/mL; jei buvo naudota 0,001 mL kilpelė, kiekviena kolonija atitinka 1000 CFU/mL šlapimo.⁸

Vidurinė šlapimo porcija ir šlapimas iš kateterio. Dabartinėse rekomendacijose nurodoma, kad vienos kultūros tankiui esant $\geq 10^5$ CFU/mL, yra infekcija, $<10^5$ CFU/mL tankis rodo šlaplės ar makšties užkrėtimą, tankis nuo 10^4 iki 10^5 CFU/mL reiškia, kad infekcijos buvimą reikia iš naujo įvertinti atsižvelgiant į klinikinę informaciją.⁸⁻¹¹

Š lapimas, surinktas atlikus suprapubinę šlapimo pūslės punkciją. Kadangi neinfekuotų žmonių šlapimo pūslė yra sterili, bet kokio CFU aptikimas reiškia infekciją.

Paprastai šlapimo patogenai sudaro daug tos pačios išvaizdos kolonijų, o pašalinės bakterijos paprastai sudaro pavienes įvairios išvaizdos kolonijas.

„CLED Agar“ leidžia augti gramteigiamoms ir gramneigiamoms bakterijoms, o MacConkey II Agar iš dalies arba visiškai slopina gramteigiamas bakterijas.

Augimas „MacConkey II Agar“ terpėje rodo gramneigiamų lazdelių buvimą, pvz., *Enterobacteriaceae* (pvz., *E. coli* ir daugelio kitų).

CLED ir „MacConkey II Agar“ leidžia tik preliminariai išskirti kolonijas pagal laktozės fermentaciją. Norint galutinai identifikuoti ir nustatyti antimikrobinį jautrumą, reikia atlikti papildomus tyrimus.¹⁰⁻¹²

Toliau pateikiama kolonijų morfologija naudojant BD **CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)**:

Mikroorganizmai	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Geltonos kolonijos, matinės; geltona terpė	Augimas; rausvos kolonijos
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Geltonos ar balsvai mėlynos kolonijos, dažnai gleivingos; gelsva terpė	Gleivingos; rausvos kolonijos
<i>Proteus</i>	Permatomos mėlynos kolonijos; mėlynai žalios ar mėlynos spalvos terpė	Augimas, bespalvės ar šviesios smėlio spalvos kolonijos, ribotas drumstumas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Žalios kolonijos su tipišku matiniu paviršiumi ir nelygiais pakraščiais; mėlyna terpė	Nereguliarios bespalvės ar rausvos kolonijos
Enterococci	Mažos geltonos kolonijos, geltona terpė	Dalinis ar visiškas slopinimas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Tamsiai geltonos kolonijos, vienodos spalvos; geltona terpė	Dalinis ar visiškas slopinimas
Koaguliazė neigiami stafilokokai	Šviesiai geltonos kolonijos, tamsesnės nei enterokokai	Dalinis ar visiškas slopinimas

VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS IR PROCEDŪROS APRIBOJIMAI

CLED Agar tinka daugelio aerobinių mikroorganizmų, tokių kaip *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* ir kitų nefermentuojančių gramneigiamų lazdelių, enterokokų, stafilokokų, *Candida* rūšių ir daugybės kitų augančių iš šlapimo mėginių mikroorganizmų išskyrimui ir skaičiavimui.

Streptokokai ir kiti mikroorganizmai, kurių augimui reikalingas kraujas ar serumas, šioje terpėje gali būti nepakankamai išskirti arba jiems gali būti reikalinga ilgesnė inkubacija. Todėl mėginį taip pat reikia auginti ant kraujo agarų lėkštelės, jei numanomas tokių mikroorganizmų buvimas.

Šlapimo ir lyties organų patogenai, pvz., *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* ar kiti reiklūs mikroorganizmai, šioje terpėje neauga. Informacijos apie tinkamus šių mikroorganizmų aptikimo būdus ieškokite atitinkamoje literatūroje.^{9,10,12}

Nors išskirti kolonijas pagal laktozės fermentaciją ir atlikti kai kuriuos diagnostinius tyrimus galima tiesiogiai šioje terpėje, norint galutinai identifikuoti, būtina atlikti biocheminius, ir, prireikus, imunologinius gryųjų kultūrų tyrimus.¹⁰⁻¹²

MacConkey II Agar yra viena iš standartinių terpių, naudojamų kaip klinikinių mėginių ir įvairių neklinikinių medžiagų pirminės lėkštelės. Šioje terpėje auga visi *Enterobacteriaceae* šeimos mikroorganizmai ir daugelis kitų gramneigiamų lazdelių, pvz., *Pseudomonas* ir susijusios rūšys. Nefermentuojantys mikroorganizmai taip pat gali augti joje, jei jie atsparūs šios terpės selektyvioms medžiagoms. Prieš naudodami terpę konkreitiems mikroorganizmams, perskaitykite atitinkamus skyrius.^{8,10}

Buvo užfiksuota, kad kai kurios *Enterobacteriaceae* ir *Pseudomonas aeruginosa* nuslopina „MacConkey Agar“ terpėje, kai inkubuojamos CO₂ praturtintoje aplinkoje.¹³

Nors kai kuriuos diagnostinius tyrimus galima atlikti tiesiogiai šioje terpėje, norint galutinai identifikuoti, būtina atlikti biocheminius, ir, prireikus, imunologinius gryųjų kultūrų tyrimus. Žr. atitinkamą literatūrą.^{8,10,12}

LITERATŪRA

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.

PAKUOTĖS / GALIMA ĮSIGYTI

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Kat. nr. 257562

Paruošta naudoti terpė lėkštelėse, 20 lėkštelių

Kat. nr. 257680

Paruošta naudoti terpė lėkštelėse, 120 lėkštelių



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 yra „American Type Culture Collection“ prekės ženklas

BD, BD logotipas ir visi kiti prekių ženklai yra „Becton, Dickinson and Company“ prekių ženklai. © BD, 2016.

Angliškame tekste žr. „References“ (literatūra).

Tik pagal receptą

„BD Diagnostic“ techninės priežiūros ir palaikymo tarnyba: kreipkitės į vietinį BD atstovą.