

BD CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

BD CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate) lieto urīna mikrobioloģiskai izmeklēšanai.

CLED Agar ir atšķirīga barotne, kas paredzēta urīnā esošo baktēriju izolēšanai un skaita

noteikšanai. MacConkey II Agar ir selektīva un atšķirīga barotne, kas paredzēta

Enterobacteriaceae un dažādu citu gramnegatīvu nūjiņu izolācijai un diferenciacijai no klīniskiem un neklīniskiem paraugiem.

PROCEDŪRAS PRINCIPI UN IZSKAIDROJUMS

Mikrobioloģiskā metode.

CLED Agar: 1960. gadā Sandys ziņoja par jaunas metodes izstrādāšanu par *Proteus* izplatīšanās samazināšanu uz cietām barotnēm, ierobežojot elektrolītus barotnē, kas vēlāk tika vairākas reizes modificēta lietošanai urīna kultūrās.¹⁻³ Tā tika nosaukta par cistīna, laktozes elektrolītu deficīta (Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient — CLED) barotni un atzīta par ideālu barotni urīna bakterioloģijas veikšanai.

CLED Agar barotnē barības vielas nodrošina peptoni un liellopu gaļas ekstrakts. Laktoze ir kā enerģijas avots organismiem, kas to spēj utilizēt, izmantojot fermentatīvo mehānismu.

Bromtimolzilais ir kā pH indikators, lai atšķirtu laktozi fermentējošus mikroorganismus no laktozi nefermentējošiem. Mikroorganismi, kas fermentē laktozi, samazinās barotnes pH un izmainīs tās krāsu no zaļas uz dzeltenu. Cistīns veicina “pundurkoloniju” koliformu baktēriju augšanu.³

Elektrolītu avoti ir reducēti, lai samazinātu *Proteus* ģints mikroorganismu izplatību.

MacConkey II Agar: vienu no pirmajām barotnes receptēm *Enterobacteriaceae* diferenciacijai izstrādāja MacConkey un tā tika publicēta 1900. un 1905. gadā.^{4,5} Recepte tika izstrādāta, pamatojoties uz zināšanām par to, ka skābes precipitē žultsskābes sāļus un noteikti zarnu mikroorganismi fermentē laktozi, kamēr citi mikroorganismi to nespēj. Vēlāk barotne tika vairākas reizes modificēta.^{6,7}

Barotne MacConkey Agar ir tikai neliels selektīvs, tādēļ ka žultsskābju sāļu koncentrācija, kas inhibē grampozitīvos mikroorganismus, ir zema salīdzinājumā ar citām barotnēm, kas paredzētas zarnu mikroflorai. Barotni iesaka izmantot ar klīniskajiem paraugiem, kas varētu saturēt jauktu mikrofloru, piemēram, urīna paraugus un vairākus citus, jo tā padara iespējamu iepriekšēju *Enterobacteriaceae* un citu gramnegatīvu nūjiņu grupēšanu laktozi fermentējošos un laktozi nefermentējošos mikroorganismos.⁷⁻¹⁰

Barotnes MacConkey II Agar sastāvs tika izveidots ar nolūku uzlabot *Proteus* ģints mikroorganismu izplatīšanās inhibēšanu, uzlabot mikroorganismu diferenciaciju laktozi fermentējošos un laktozi nefermentējošos mikroorganismos un to augšanu.

Barotnē MacConkey II Agar barības vielas nodrošina peptoni. Krāsviela kristālvioletais inhibē gramnegatīvās baktērijas, īpaši enterokus un stafilokokus. Zarnu mikroorganismu diferenciacija tiek panākta, izmantojot laktozes un neitrāli sarkanā pH indikatora kombināciju. Bezkrāsainas vai rozā līdz sarkanās krāsas kolonijas veidojas atkarībā no izolāta spējas fermentēt ogļhidrātus.

Šajā biplatē barotnē CLED un MacConkey II Agar klātbūtne ļauj noteikt kopējo baktēriju skaitu un veikt grampozitīvo un gramnegatīvo mikroorganismu izolāciju no urīna paraugiem.

REAĢENTI

CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)

Formula* Litrā attīrīta ūdens

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Želatīna pankreātiskais peptons	4,0 g	Želatīna pankreātiskais peptons	17,0 g
Kazeīna pankreātiskais peptons	4,0	Kazeīna pankreātiskais peptons	1,5
Liellopu gaļas ekstrakts	3,0	Dzīvnieka audu pepsīna ekstrakts	1,5
Laktoze	10,0	Laktoze	10,0
L-cistīns	0,128	Žultskābes sāļi	1,5
Bromtimolzilais	0,02	Nātrija hlorīds	5,0
Agars	15,0	Neitrāli sarkanais	0,03
pH, 7,3 ± 0,2		Kristālvioletais	0,001
		Agars	13,5
		pH, 7,1 ± 0,2	

*Pēc nepieciešamības pielāgots un/vai papildināts, lai sasniegtu veikspējas kritērijus.

PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

Paredzēts diagnostikai In Vitro **IVD**. Paredzēts tikai profesionālai lietošanai. 
Neizmantojiet barotnes, ja pamaniet mikrobiāla piesārņojuma pazīmes, krāsas maiņu, izžūšanu, saplaisāšanu vai citas bojājuma pazīmes.

UZGLABĀŠANA UN GLABĀŠANAS LAIKS

Saskaņā ar recepti, uzglabāiet barotnes tumsā, no 2 līdz 8°C temperatūrā, oriģinālajā uzmavas iesaiņojumā, no iepakojuma izņemot tikai pirms lietošanas. Nepieļaut sasaldšanu un pārkaršanu. Uz barotnēm var veikt uzsēju un veikt to inkubāciju noteikto inkubācijas laiku līdz pat barotņu derīguma termiņa beigām (skatīt etiķeti uz iepakojuma).
Barotnes no atvērta 10 plašu iepakojuma drīkst izmantot vienu nedēļu, ja tās tiek uzglabātas tīrā vietā 2 līdz 8°C temperatūrā.

LIETOTĀJA KVALITĀTES KONTROLE

Raksturīgo paraugu uzsējumi ar tālāk norādītajiem celmiem (lai iegūtu sīkāku informāciju, skatiet dokumentu **VISPĀRĒJI NORĀDĪJUMI PAR LIETOŠANU**). Veiciet barotņu inkubāciju aerobā atmosfērā, 35 ± 2°C temperatūrā.
Veiciet plašu izmeklējumus no 18 līdz 24 h, lai novērotu augšanas apmērus, pigmentāciju, koloniju izmērus un *Proteus* izplatības kavēšanu.

Celmi	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Uzaugums; kolonijas dzeltenā krāsā; barotne dzeltenā krāsā	Uzaugums; kolonijas sārta krāsā
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Uzaugums; koloniju krāsojums no bezkrāsaina līdz zilam; izplatība ierobežota; pieļaujama neliela izplatība	Uzaugums; koloniju krāsa no bezkrāsainas līdz smilškrāsai; izplatība ierobežota
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Uzaugums; koloniju krāsa no bezkrāsainas līdz dzeltenai; barotne dzeltenā krāsā	Dalēja līdz pilnīga inhibēšana
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Uzaugums; kolonijas mazas, dzeltenā krāsā; barotne dzeltenā krāsā	Dalēja līdz pilnīga inhibēšana
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Uzaugums; kolonijas mazas, no baltas līdz dzeltenīgai krāsai; barotne dzeltenā krāsā	Dalēja līdz pilnīga inhibēšana
Bez uzsējuma	No zaļas līdz zilganzaļai krāsai	Viegli sārta, viegli opalescējoša

PROCEDŪRA

Nodrošinātie materiāli

BD CLED Agar/MacConkey II Agar (90 mm duālās barotnes). Mikrobioloģiski kontrolēti.

Nenodrošinātie materiāli

Palīgbarotne, reaģenti un nepieciešamais laboratorijas aprīkojums.

Paraugu veidi un to ņemšana

Šī barotne tiek izmantota tikai baktēriju skaita noteikšanai un diferenciācijai urīnā. Var izmantot urīnu, kas iegūts no strūklas, caur katetru, vai arī veicot urīnpūšļa punkciju (skatiet arī sadaļu **VEIKTSPĒJAS RAKSTUROJUMS UN PROCEDŪRAS IEROBEŽOJUMI**). Urīna paraugu ievākšanai izmantojiet aseptiskas metodes. Urīns jāuznes uz barotnes ne vēlāk kā 2 stundas pēc tā savākšanas vai arī tas jāuzglabā vēsumā (ne ilgāk kā 24 stundas), lai novērstu aizaugšanu ar infekcijas izraisītājiem vai piesārņotājiem pirms uzsēšanas uz barotnes.^{8–11}

Testa procedūra

Iegūstiet neatšķaidīta, labi samaisīta urīna paraugu, izmantojot kalibrētu cilpu (0,01 vai 0,001 mL) katrai no divām barotnēm šajā biplatē. Pārliecinieties, ka cilpa ir atbilstoši piepildīta ar paraugu. Vispirms uznesiet paraugu uz CLED Agar barotnes un otru paraugu uz MacConkey II Agar barotnes. Inkubējiet plates aerobos apstākļos, $35 \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūrā 24 līdz 48 h. Neveiciet inkubāciju ar CO₂ bagātinātā aerobā atmosfērā!

Rezultātu aprēķināšana un interpretācija

Saskaitiet kolonijas (colony forming units — CFU (kolonijas veidojošas vienības — KVV)) uz plates. Ja parauga uznešanai tika izmantota 0,01 mL cilpa, katra kolonija raksturo 100 KVV/mL urīnā; ja izmantota 0,001 mL, katra kolonija atbilst 1000 KVV/mL urīnā.⁸

Urīna paraugs, kas iegūts no strūklas un katetra: kā norādīts pašreiz spēkā esošajās vadlīnijās, tad viens izolāts, kura blīvums ir $\geq 10^5$ KVV/mL, liecina par infekciju, $<10^5$ KVV/mL norāda par urīnvada vai maksts piesārņojumu, un blīvums starp 10^4 līdz 10^5 KVV/mL liecina par nepieciešamību veikt parauga atkārtotu novērtēšanu, balstoties uz klīnisko informāciju.^{8–11}

Urīna paraugs, kas iegūts, veicot urīnpūšļa punkciju: tā kā urīnpūslī infekcijas ierosinātājiem nebūtu jābūt, un tas ir sterils, tad ikviena noteiktā KVV norāda par infekciju.

Urīnā esošie patogēnie mikroorganismi parasti veido daudzskaitlīgas, viendabīgas morfoloģijas kolonijas, kamēr kontaminantu baktērijas parādās nelielā skaitā, kas atšķiras ar variējošu koloniju morfoloģiju.

Barotnē CLED Agar aug gan grampozitīvie, gan gramnegatīvie mikroorganismi, savukārt barotnē MacConkey II Agar daļēji līdz pilnīgi tiek ierobežota grampozitīvo baktēriju augšana. Uzaugums uz barotnes MacConkey II Agar Medium norāda par gramnegatīvo nūjiņu klātbūtni, piem., *Enterobacteriaceae* (kā *E. coli* un daudzas citas).

Balstoties uz laktozes fermentāciju, barotnes CLED un MacConkey II Agar ļauj veikt tikai varbūtēju koloniju diferenciāciju. Pilnīgai identifikācijai un, lai noteiktu antimikrobiālo jutību, nepieciešams veikt papildus pārbaudes.^{10–12}

Tipiska koloniju morfoloģija uz barotnēm BD **CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)** ir norādīta tālāk.

Organismi	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Kolonijas dzeltenā krāsā, gaismu necaurīdīgas; barotne dzeltenā krāsā	Uzaugums; kolonijas sārtā krāsā
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Kolonijas no dzeltenas līdz zilganbālai krāsai; barotne dzeltenā krāsā	Kolonijas glotainas, sārtā krāsā
<i>Proteus</i>	Kolonijas caurspīdīgas, zilā krāsā; barotne zili zaļā līdz zilā krāsā	Uzaugums; koloniju krāsa no bezkrāsainas līdz smilškrāsai; izplatība ierobežota
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kolonijas zaļā krāsā ar raksturīgi matētu virsmu un grumbulainām malām; barotne zilā krāsā	Kolonijas neregulāras formas, no bezkrāsainas līdz sārtai krāsai
Enterococci	Kolonijas mazas, dzeltenā krāsā; barotne dzeltenā krāsā	Daļēja līdz pilnīga inhibēšana
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kolonijas dziļas, vienmērīgi dzeltenā krāsā; barotne dzeltenā krāsā	Daļēja līdz pilnīga inhibēšana
Koagulāzes negatīvie stafilokoki	Kolonijas bāli dzeltenā krāsā, vēl vairāk gaismu necaurīdīgas kā enterokoki	Daļēja līdz pilnīga inhibēšana

VEIKTSPĒJAS RAKSTUROJUMS UN PROCEDŪRAS IEROBEŽOJUMI

Barotne **CLED Agar** ir piemērota vairāku aerobo mikroorganismu izolēšanai un skaitīšanai no urīna paraugiem, piemēram, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* un citas nefermentējošas, gramnegatīvas nūjiņas, enterokoku, stafilokoku, *Candida* ģintis un daudzas citas.

Streptokokus un citus organismus, kuru augšanai ir nepieciešamas asinis vai asins serums, uz šīs barotnes var noteikt nepilnīgi vai arī ir nepieciešams ilgāks inkubācijas laiks. Tādēļ, ja tiek paredzēta šo mikroorganismu klātbūtne, to kultivēšanai ir jāizmanto asins agara barotne.

Uz šīs barotnes neaug uroģenitālie patogēni, piemēram, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma*, vai citi izvēlīgi organismi. Lai iegūtu informāciju par atbilstošām šo organismu noteikšanas metodēm, skatiet atsauces.^{9,10,12}

Lai gan diferenciāciju, balstoties uz laktozes fermentāciju un noteiktus diagnostikas testus var veikt tieši uz šīs barotnes, pilnīgai identifikācijai ir nepieciešams veikt bioķīmiskas, un, ja norādīts, imunoloģiskas pārbaudes, izmantojot tīrkultūras.¹⁰⁻¹²

MacConkey II Agar ir viena no standarta barotnēm, kas tiek izmantota klīnisku paraugu un dažādu neklīniskas izcelsmes materiālu uzsēšanai. Uz šīs barotnes augs visi mikroorganismi no *Enterobacteriaceae* ģints un dažādas gramnegatīvas nūjiņas, piemēram, *Pseudomonas* un saistītas ģintis. Nefermentējošie mikroorganismi uz šīs barotnes augs ar nosacījumu, ja tie ir rezistenti pret barotnes selektīvajām sastāvdaļām. Pirms barotnes lietošanas specifisku mikroorganismu noteikšanai, skatiet attiecīgās atsauču sadaļas.^{8,10}

Ir pieejami ziņojumi, ka dažas *Enterobacteriaceae* un *Pseudomonas aeruginosa* ģintis uz barotnes MacConkey Agar tiek inhibētas, ja tās tiek inkubētas ar CO₂-bagātinātā atmosfērā.¹³

Lai gan noteiktus diagnostikas testus var veikt tieši uz šīs barotnes, pilnīgai identifikācijai ir nepieciešams veikt bioķīmiskas, un, ja norādīts, imunoloģiskas pārbaudes, izmantojot tīrkultūras. Skatiet atbilstošās atsauces.^{8,10,12}

ATSAUCES

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.

IEPAKOJUMS/PIEEJAMĪBA

CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)

Kat. Nr. 257562 Lietošanai gatava plates barotne, 20 plates
Kat. Nr. 257680 Lietošanai gatava plates barotne, 120 plates



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 uzņēmuma American Type Culture Collection preču zīme
BD, BD Logo un visas pārējās preču zīmes ir uzņēmuma Becton, Dickinson and Company īpašums. © 2016 BD

Skatīt "References" (Atsauces) tekstā angļu valodā.

Rx Only (Saskaņā ar ASV federālo likumu šo ierīci drīkst pārdot tikai ārstiem un atbilstoši
licencētiem medicīnas darbiniekiem) (this phrase means "For Prescription Only")

BD Diagnostics tehniskais dienests un atbalsts: sazinieties ar vietējo BD pārstāvi.