



Двухкомпонентная среда BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) (agar CLED / agar Мак-Конки II (двойная чашка))

НАЗНАЧЕНИЕ

Двухкомпонентная среда BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) (agar CLED / agar Мак-Конки II (двойная чашка)) используется для микробиологического анализа мочи.

Агар CLED — дифференциальная питательная среда для изоляции и подсчета бактерий в моче. Агар Мак-Конки II — селективная и дифференциальная среда для изоляции и дифференцирования бактерий *Enterobacteriaceae* и ряда других грамотрицательных палочек как в клинических, так и в неклинических образцах.

ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод.

Агар CLED В 1960 году Сэндиз (Sandys) сообщил о разработке нового метода предотвращения согласованного массового перемещения («роения») бактерий *Proteus* на твердой среде с помощью ограничения электролитов в питательной среде, которая позднее была несколько раз модифицирована для посева мочи¹⁻³. Среда была названа CLED (Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient) — бессолевая лактозная питательная среда с цистином) и признана оптимальной для уринарной бактериологии.

В агаре CLED питательными веществами являются пептоны и мясной экстракт. Лактоза — источник энергии для микроорганизмов, которые способны ее утилизировать при помощи ферментативного механизма. Бромтимоловый синий используется в качестве индикатора pH для отличия микроорганизмов, ферментирующих лактозу, от микроорганизмов, не ферментирующих лактозу. Микроорганизмы, ферментирующие лактозу, понижают уровень pH и меняют цвет среды с зеленого на желтый. Цистин обеспечивает рост «карликовых колоний» бактерий группы кишечной палочки³. Источники электролитов сокращены, чтобы минимизировать «роение» видов *Proteus*.

Агар Мак-Конки II Одна из первых сред для дифференцирования *Enterobacteriaceae* была разработана Мак-Конки (MacConkey), а информация о ней была опубликована в 1900 и 1905 годах^{4, 5}. Эта рецептура была разработана на основании того, что соли желчных кислот осаждаются кислотами, а некоторые кишечные микроорганизмы ферментируют лактозу, в то время как другие микроорганизмы не обладают такой способностью. Позднее данная среда была несколько раз модифицирована^{6, 7}.

Агар Мак-Конки — слабоселективная среда, поскольку концентрация солей желчных кислот, ингибирующих грамположительные микроорганизмы, относительно невысока по сравнению с другими средами для посева кишечных культур. Данная среда рекомендуется для использования с клиническими образцами с высокой вероятностью наличия смешанной бактериальной флоры, такими как моча и многие другие образцы, поскольку данная среда позволяет предварительно разделить *Enterobacteriaceae* и другие грамотрицательные палочки на ферментирующие и не ферментирующие лактозу⁷⁻¹⁰.

Рецептура агара Мак-Конки II была разработана для улучшения ингибирования «роения» видов *Proteus* для более качественной дифференциации микроорганизмов, ферментирующих и не ферментирующих лактозу, и стимулирования роста.

В агаре Мак-Конки II источником питательных веществ являются пептоны.

Кристаллический фиолетовый ингибирует рост грамположительных бактерий, особенно энтерококков и стафилококков. Дифференциация кишечных микроорганизмов достигается при помощи комбинации лактозы и нейтрального красного индикатора pH. В зависимости от способности изолята ферментировать углеводы образуются бесцветные колонии или колонии от розового до красного цвета.

Наличие в двухкомпонентной среде агара CLED и агара Мак-Конки II позволяет подсчитать общее количество и изолировать грамположительные и грамотрицательные бактерии из образцов мочи.

РЕАКТИВЫ

Двухкомпонентная среда CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) (агар CLED / агар Мак-Конки II (двойная чашка))

Рецептура* на 1 литр очищенной воды

Агар CLED		Агар Мак-Конки II	
Панкреатический гидролизат жел	4,0 г	Панкреатический гидролизат желатин	17,0 г
Панкреатический гидролизат ка	4,0	Панкреатический гидролизат казеина	1,5
Мясной экстракт	3,0	Пептический гидролизат животной тка	1,5
Лактоза	10,0	Лактоза	10,0
L-цистин	0,128	Соли желчных кислот	1,5
Бромтимоловый синий	0,02	Натрия хлорид	5,0
Агар	15,0	Нейтральный красный	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Кристаллический фиолетовый	0,001
		Агар	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

* При необходимости изменяется и (или) дополняется для соответствия критериям эффективности.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для диагностики in vitro **IVD**. Только для профессионального применения. ⓧ

Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания, растрескивания или других признаков порчи продукта.

ХРАНИЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

После получения храните чашки в темноте при температуре от 2 до 8 °C в оригинальной обертке до начала использования. Избегайте замораживания и перегрева. Чашки могут быть засеяны до истечения срока годности (см. этикетку на упаковке) и инкубированы в течение рекомендованного времени инкубации.

Чашки из вскрытых стопок по 10 чашек могут использоваться в течение одной недели при условии хранения в чистом месте при температуре от 2 до 8 °C.

ПОЛЬЗОВАТЕЛЬСКИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Засейте репрезентативные образцы следующими штаммами (подробные сведения см. в документе **ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**). Инкубируйте чашки при 35 ± 2 °C в аэробной атмосфере.

Проверьте чашки через 18–24 часа на интенсивность роста, пигментацию, размер колоний и ингибирование «роения»/распространения видов *Proteus*.

Штаммы	Агар CLED	Агар Мак-Конки II
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Рост; колонии желтые, среда желтая	Рост; колонии розовые
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Рост; колонии от бесцветных до синих; «роение» подавлено; незначительное распространение допустимо	Рост; колонии от бесцветных до бежевых; «роение» подавлено
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Рост; колонии от бесцветных до желтых; среда желтая	Ингибирование от частичного до полного
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Рост; небольшие колонии желтого цвета; среда желтая	Ингибирование от частичного до полного
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Рост; небольшие колонии белого или желтоватого цвета; среда желтая	Ингибирование от частичного до полного
Незасеянные	Зеленый или сине-зеленый	Светло-розовый с легким молочным отливом

МЕТОДИКА

Предоставляемые материалы

Двухкомпонентная среда **BD CLED Agar / MacConkey II Agar** (агар CLED / агар Мак-Конки II) (чашки диаметром 90 мм). Не содержит микроорганизмов.

Непредоставляемые материалы

Дополнительная питательная среда, реагенты и лабораторное оборудование по мере необходимости.

Типы образцов и взятие образцов

Данная среда используется исключительно для подсчета и дифференцирования бактерий в моче. Может использоваться средняя порция мочи или моча из катетера, а также моча, полученная при надлобковой пункции мочевого пузыря (см. также **ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ**). При сборе образцов мочи соблюдайте асептические методики работы. Мочу следует наносить штрихами прямо на среду (не позднее чем через 2 часа после сбора) или хранить в холодильнике (не дольше 24 часов) для предотвращения чрезмерного роста возбудителей инфекции или загрязнений до посева на среду⁸⁻¹¹.

Методика анализа

Возьмите по образцу неразбавленной, хорошо перемешанной мочи с помощью калиброванной петли (0,01 или 0,001 мл) для каждой из двух сред на чашке. Убедитесь в правильности нанесения образца на петлю. Сначала нанесите штрихами первый образец мочи на агар CLED, затем второй образец мочи — на агар Мак-Конки II. Инкубируйте чашки в аэробной атмосфере при температуре 35 ± 2 °C в течение 24 – 48 часов. Не инкубируйте в CO₂-обогащенной аэробной атмосфере!

Подсчет и интерпретация результатов

Подсчитайте количество колоний (КОЕ) на чашке. При использовании петли объемом 0,01 мл каждая полученная колония соответствует 100 КОЕ/мл; при использовании петли объемом 0,001 мл каждая колония соответствует 1000 КОЕ/мл мочи⁸.

Средняя порция мочи и моча из катетера. Согласно современным рекомендациям, плотность изолята $\geq 10^5$ КОЕ/мл свидетельствует о наличии инфекции, плотность менее 10^5 указывает на наличие уретральной или вагинальной контаминации, а при плотности от 10^4 до 10^5 КОЕ/мл требуется повторная оценка на основе клинических данных⁸⁻¹¹.

Моча, полученная при надлобковой пункции мочевого пузыря. Поскольку у неинфицированных пациентов мочевого пузыря стерил, любое значение числа КОЕ свидетельствует о наличии инфекции.

Патогенные микроорганизмы мочи обычно сопровождаются большими количественными значениями при постоянной морфологии колоний, а контаминирующие бактерии обычно проявляются в небольших количествах с разнообразной морфологией колоний.

В то время как агар CLED обеспечивает рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, на агаре Мак-Конки II грамположительные бактерии частично или полностью ингибируются.

Рост на агаре Мак-Конки свидетельствует о присутствии грамотрицательных палочек, например *Enterobacteriaceae* (таких как *E. coli* и многие другие).

Агар CLED и агар Мак-Конки II позволяют лишь предположительно дифференцировать колонии на основании ферментации лактозы. Для полной идентификации и определения чувствительности к противомикробным препаратам необходимы дополнительные анализы¹⁰⁻¹².

Типичная морфология колонии на двухкомпонентной среде BD **CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** (агар CLED / агар Мак-Конки II (двойная чашка)):

Микроорганизмы	Агар CLED	Агар Мак-Конки II
<i>Escherichia coli</i>	Желтые колонии, непрозрачные; желтая среда	Рост; колонии розовые
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Желтые или светло-голубые колонии, часто слизеподобные; желтая среда	Слизеподобные колонии розового цвета
<i>Proteus</i>	Полупрозрачные синие колонии; сине-зеленая или синяя среда	Рост; колонии от бесцветных до бежевых; «роение» подавлено
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Зеленые колонии с типичной матовой поверхностью и шероховатой периферией; синяя среда	Неравномерные колонии от бесцветных до розовых
Энтерококки	Небольшие желтые колонии, желтая среда	Ингибирование от частичного до полного
<i>Staphylococcus aureus</i>	Колонии равномерного темно-желтого цвета; желтая среда	Ингибирование от частичного до полного
Коагулазаотрицательные стафилококки	Бледно-желтые колонии, более непрозрачные, чем энтерококки	Ингибирование от частичного до полного

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Агар CLED позволяет выделять из образцов мочи и подсчитывать многие аэробные микроорганизмы, такие как *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* и другие неферментирующие грамотрицательные палочки, энтерококки, стафилококки, виды *Candida* и многие другие.

Стрептококки и другие микроорганизмы, которым требуется кровь или сыворотка для роста, могут плохо расти на данной среде или нуждаться в дополнительной инкубации. Поэтому образец нужно также культивировать на чашке с кровяным агаром, если подозревается наличие таких микроорганизмов.

Патогены из мочеполовой системы, такие как *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia* и *Ureaplasma*, и другие микроорганизмы, требовательные к питательной среде, на данной среде не растут. См. справочные материалы по соответствующим методикам обнаружения упомянутых микроорганизмов^{9, 10, 12}

Несмотря на то, что дифференцирование на основании ферментации лактозы и некоторые диагностические тесты можно выполнять непосредственно на данной среде, для полной идентификации необходимо провести биохимическое и, если показано, иммунологическое тестирование с использованием чистых культур^{10–12}.

Агар Мак-Конки II — одна из стандартных сред, используемых в основном для первичного посева клинических образцов и ряда неклинических материалов. На этой среде растут все микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae* и многие другие грамотрицательные палочки, такие как *Pseudomonas* и родственные виды. Неферментирующие бактерии растут на данной среде при условии устойчивости к ее селективным ингредиентам. Перед использованием среды для определенных микроорганизмов обратитесь к соответствующим главам справочных материалов^{8, 10}.

Сообщается, что некоторые виды *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonas aeruginosa* ингибируются на агаре Мак-Конки при инкубации в CO₂-обогащенной атмосфере¹³.

Несмотря на то, что некоторые диагностические тесты можно выполнять непосредственно на данной среде, для полной идентификации необходимо провести биохимическое и, если показано, иммунологическое тестирование с использованием чистых культур. См. соответствующие справочные материалы^{8, 10, 12}.

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

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. Gatermann, 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.

УПАКОВКА/НАЛИЧИЕ

Двухкомпонентная среда CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) (агар CLED / агар Мак-Конки II (двойная чашка))

№ по каталогу 257562	Готовая к использованию среда в чашках; 20 чашек
№ по каталогу 257680	Готовая к использованию среда в чашках; 120 чашек



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 является товарным знаком Американской коллекции типовых культур
BD, логотип BD и все прочие товарные знаки являются собственностью компании Becton, Dickinson and Company. © BD, 2016 г.

См. раздел «References» в английском тексте.

Только по рецепту

Служба технической поддержки BD Diagnostics: обратитесь к представителю компании BD в вашем регионе.