



BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

POUŽITIE

Pôda **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** (dvojitá miska) sa používa na mikrobiologickú analýzu moču. Pôda CLED Agar je diferenčná kultivačná pôda určená na použitie pri izolácii a určovaní počtu baktérií v moči. Pôda MacConkey II Agar je selektívna a diferenčná pôda na izoláciu a diferenciaciu baktérií čeľade *Enterobacteriaceae* a množstva ďalších gramnegatívnych bacilov z klinických aj neklinických vzoriek.

PRINCÍP A VYSVETLENIE METÓDY

Mikrobiologická metóda.

CLED Agar: V roku 1960 Sandys oznámil, že vyvinul novú metódu, ktorá zabráňuje plazeniu rodu *Proteus* v tuhých pôdach tým, že obmedzuje počet elektrolytov v kultivačnej pôde. Metóda bola neskôr niekoľkokrát upravená na použitie pri kultivácii moču.¹⁻³ Označovala sa ako cystín-laktóza-elektrolyt-deficientná (CLED) pôda a ukázala sa ako ideálna pre urinárnu bakteriológiu. Živiny v pôde CLED Agar poskytujú peptóny a hovädzí extrakt. Laktóza je zdrojom energie pre organizmy, ktoré sú schopné ju využiť vďaka svojmu fermentačnému mechanizmu. Bromthymolová modrá slúži ako indikátor pH na rozlíšenie laktózu fermentujúcich a laktózu nefermentujúcich mikroorganizmov. Organizmy, ktoré fermentujú laktózu, znižujú pH a menia farbu pôdy zo zelenej na žltú. Cystín umožňuje rast koliformných baktérií v „trpasličej kolónii“.³ Zdroje elektrolytov sú redukované, aby sa minimalizovalo plazenie rodu *Proteus*.

MacConkey II Agar: Jedno z najstarších zložení pôdy na diferenciaciu baktérií čeľade *Enterobacteriaceae* vyvinul MacConkey a prezentoval ju v rokoch 1900 a 1905.^{4,5} Jej zloženie bolo navrhnuté na základe vedomostí, že kyseliny spôsobujú zrážanie solí kyseliny žlčovej a že niektoré črevné mikroorganizmy fermentujú laktózu, kým iné túto schopnosť nemajú. Neskôr bola táto pôda viackrát modifikovaná.^{6,7}

Pôda MacConkey Agar je len slabó selektívna, pretože koncentrácia solí kyseliny žlčovej, ktoré inhibujú grampozitívne mikroorganizmy, je v porovnaní s inými enterickými pôdami nízka. Odporúča sa používať túto pôdu pre klinické vzorky, ktoré pravdepodobne obsahujú zmiešanú mikrobiálnu flóru, ako je napríklad moč a mnohé iné, pretože umožňuje predbežné zoskupovanie baktérií čeľade *Enterobacteriaceae* a iných gramnegatívnych bacilov do laktózu fermentujúcich a laktózu nefermentujúcich skupín.⁷⁻¹⁰

Zloženie pôdy MacConkey II Agar bolo navrhnuté za účelom zlepšenia inhibície plazenja baktérií rodu *Proteus*, aby sa dosiahla lepšia diferenciacia baktérií fermentujúcich a nefermentujúcich laktózu a ich zvýšený rast.

Živiny v pôde MacConkey II Agar poskytujú peptóny. Kryštálová violet inhibuje grampozitívne baktérie, najmä enterokoky a stafylokoky. Diferenciácia črevných mikroorganizmov sa dosahuje kombináciou laktózy a indikátora pH s neutrálnou červeňou. Výsledkom sú bezfarebné alebo ružové až červené kolónie v závislosti od schopnosti izolátu fermentovať tento uhľovodík.

Prítomnosť pôd CLED a MacConkey II Agar v tejto dvojitej miske umožňuje izolovať grampozitívne a gramnegatívne baktérie zo vzoriek moču a určiť ich celkový počet.

ZLOŽENIE

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) (dvojitá miska)

Zloženie* na jeden liter purifikovanej vody

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Pankreatický želatínový hydrolyzá	4,0 g	Pankreatický želatínový hydrolyzá	17,0 g
Pankreatický kazeínový hydrolyzá	4,0	Pankreatický kazeínový hydrolyzá	1,5
Hovädzí extrakt	3,0	Peptický hydrolyzá	1,5
Laktóza	10,0	Laktóza	10,0
L-cystín	0,128	Soli kyseliny žlčovej	1,5
Bromthymolová modrá	0,02	Chlorid sodný	5,0
Agar	15,0	Neutrálne červené	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Kryštálová violet	0,001
		Agar	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

* Upravené alebo doplnené podľa potreby tak, aby boli splnené kritériá účinnosti.

UPOZORNENIA

Len na diagnostické použitie in vitro. **IVD**. Len na profesionálne použitie. 

Misky nepoužívajte, ak sú na nich viditeľné známky mikrobiálnej kontaminácie, zmeny farby, vysušenia, prasknutia alebo iné známky poškodenia.

USKLADNENIE A ŽIVOTNOSŤ

Dodané misky s pôdou skladujte na tmavom mieste pri teplote 2 až 8 °C v pôvodnom obale. Z obalu ich vyberte až bezprostredne pred použitím. Nezmrazujte ani nevystavujte nadmernej teplote. Pôda v miskách sa môže očkovať až do dátumu použiteľnosti (uvedeného na obale) a inkubovať podľa odporúčania.

Misky z otvorených balení po 10 kusov sa môžu používať jeden týždeň, ak sú uskladnené na čistom mieste pri teplote 2 až 8 °C.

KONTROLA KVALITY UŽÍVATEĽOM

Reprezentatívne vzorky naočkujte nasledujúcimi kmeňmi (podrobnosti nájdete v dokumente **VŠEOBECNÉ POKYNY NA POUŽÍVANIE**). Misky inkubujte pri teplote 35 ± 2 °C v aeróbnom prostredí.

Po 18 až 24 hodín skontrolujte objem rastu, pigmentáciu, veľkosť kolónií a inhibíciu plazení/šírenia rodu *Proteus*.

Kmene	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Rast; kolónie žlté; pôda žltá	Rast; ružové kolónie
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Rast; kolónie bezfarebné až modré; plazenie inhibované; mierne šírenie prijateľné	Rast; bezfarebné až béžové kolónie, plazenie inhibované
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Rast; kolónie bezfarebné až žlté; pôda žltá	Čiastočná až úplná inhibícia
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Rast; kolónie malé, žlté; pôda žltá	Čiastočná až úplná inhibícia
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Rast; kolónie malé, biele až žltasté; pôda žltá	Čiastočná až úplná inhibícia
Nenaočkované	Zelené až modrozelené	Svetloružové, jemne opaleskujúce

POSTUP

Dodávaný materiál

Pôda **BD CLED Agar / MacConkey II Agar** (90-mm dvojité misky). Mikrobiologicky kontrolované.

Nedodávaný materiál

Pomocné kultivačné pôdy, činidlá a potrebné laboratórne vybavenie.

Typy vzoriek a ich odber

Táto pôda sa používa výhradne na určenie počtu a diferenciáciu baktérií v moči. Možno použiť strednoprúdový moč, cievkovaný moč alebo moč odobratý punkciou močového mechúra nad lonovou kosťou (pozri tiež **VLASTNOSTI A OBMEDZENIA POSTUPU**). Dodržiavajte aseptické techniky na odber vzoriek moču. Moč je potrebné očkovať priamo na pôdu najviac 2 hodiny po odbere, alebo sa musí uchovávať chladený (najviac na 24 hodín), aby sa predišlo nadmernému nárastu infekčných látok alebo prímiesi pred naočkovaním na túto pôdu.⁸⁻¹¹

Postup testu

Použitím kalibrovanej kľučky (0,01 alebo 0,001 mL) odoberte vzorku nezriedeného, dobre premiešaného moču pre každú z dvojice pôd na tejto dvojitej miske. Zaistíte správne naplnenie kľučky vzorkou. Najskôr naneste vzorku moču v páse na pôdu CLED Agar, potom druhú vzorku na pôdu MacConkey II Agar. Misky inkubujte v aeróbnom prostredí pri teplote $35 \pm 2^\circ\text{C}$ na 24 až 48 hodín. Neinkubujte ich v aeróbnom prostredí obohatenom o CO_2 !

Výpočet a interpretácia výsledkov

Určte počet kolónií (CFU) na Petriho miske. Ak ste použili kľučku s objemom 0,01 mL, každá výsledná kolónia predstavuje 100 CFU/mL; ak ste použili kľučku s objemom 0,001 mL, každá kolónia zodpovedá 1000 CFU/mL moču.⁸

Strednoprúdový a cievkovaný moč: Súčasné smernice naznačujú, že pri jedinom izoláte hustota $\geq 10^5$ CFU/mL indikuje infekciu, hustota $< 10^5$ CFU/mL indikuje uretrálnu alebo vaginálnu kontamináciu a hustota medzi 10^4 a 10^5 CFU/mL si vyžaduje opätovné vyhodnotenie na základe klinických informácií.⁸⁻¹¹

Moč odobratý punkciou močového mechúra nad lonovou kosťou: Keďže močový mechúr je u neinfikovaných jedincov sterilný, každá zistená jednotka CFU naznačuje infekciu.

Urinárne patogény väčšinou vykazujú vysoké počty, keďže majú jednotnú morfológiu kolónií, kým kontaminačné baktérie sa väčšinou objavujú v malých množstvách, ktoré sa menia v rámci morfológie kolónií.

Kým pôda CLED Agar umožňuje rast grampozitívnych a gramnegatívnych baktérií, v pôde MacConkey II Agar sú grampozitívne baktérie čiastočne až úplne inhibované.

Rast v pôde MacConkey II Agar indikuje prítomnosť gramnegatívnych bacilov, napr., *Enterobacteriaceae* (ako *E. coli* a mnohé iné).

Pôdy CLED Agar a MacConkey II Agar umožňujú iba predbežnú diferenciáciu kolónií podľa fermentácie laktózy. Na úplnú identifikáciu a určenie citlivosti na antibiotiká je nutné vykonať ďalšie testy.¹⁰⁻¹²

Typická morfológia kolónií na pôde BD **CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** je takáto:

Organizmy	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Žlté kolónie, nepriehľadné; žltá pôda	Rast; ružové kolónie
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Žlté až belavomodré kolónie, často mukoidné; žltkastá pôda	Mukoidné, ružové kolónie
<i>Proteus</i>	Priehľadné modré kolónie; modrozelená až modrá pôda	Rast; bezfarebné až béžové kolónie, plazenie inhibované
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Zelené kolónie s typickým zrnitým povrchom a drsným okrajom; modrá pôda	Nepravidelné, bezfarebné až ružové kolónie
Enterokoky	Malé žlté kolónie; žltá pôda	Čiastočná až úplná inhibícia
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sýtožlté kolónie jednotnej farby; žltá pôda	Čiastočná až úplná inhibícia
Koaguláza-negatívne stafylokoky	Svetložlté kolónie, nepriehľadnejšie ako enterokoky	Čiastočná až úplná inhibícia

VLASTNOSTI A OBMEDZENIA POSTUPU

Pôda **CLED Agar** je vhodná na izoláciu a určovanie počtu mnohých aeróbne rastúcich mikroorganizmov, ako napr. čeladi *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* a ďalších nefermentujúcich gramnegatívnych bacilov, enterokokov, stafylokokov, rodov *Candida* a mnohých ďalších zo vzoriek moču.

Streptokoky a ďalšie organizmy, ktoré pre svoj rast potrebujú krv alebo sérum, môžu byť na tejto pôde iba nedostatočne izolované alebo môžu vyžadovať predĺženú inkubáciu. Preto, ak sa takéto organizmy očakávajú, mala by sa vzorka kultivovať zároveň na krvnej agarovej pôde.

Močovopohlavné patogény ako *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* alebo iné náročné organizmy na tejto pôde nerastú. Informácie o vhodných detekčných technikách týchto organizmov nájdete v použitej literatúre.^{9,10,12}

Hoci je priamo na tejto pôde možné rozlíšiť mikroorganizmy podľa fermentácie laktózy a vykonať určité diagnostické testy, na úplnú identifikáciu sú nevyhnutné biochemické a v prípade indikácie aj imunologické testy s použitím čistých kultúr.¹⁰⁻¹²

Pôda **MacConkey II Agar** je jedna zo štandardných pôd používaných na primárnu kultiváciu klinických vzoriek a mnohých ďalších neklinických materiálov. Na tejto pôde rastú všetky organizmy čelade *Enterobacteriaceae* a množstvo iných gramnegatívnych bacilov, ako napr. *Pseudomonas* a príbuzné rody. Na tejto pôde rastú nefermentujúce baktérie, ak sú rezistentné voči jej selektívnym zložkám. Pred použitím tejto pôdy pre špecifické organizmy si preštudujte príslušné kapitoly v použitej literatúre.^{8,10}

Bolo zaznamenané, že niektoré organizmy čelade *Enterobacteriaceae* a *Pseudomonas aeruginosa* sú na pôde MacConkey Agar inhibované, keď inkubácia prebieha v atmosfére obohatenej o CO₂.¹³

Hoci sa určité diagnostické testy dajú vykonať priamo na tejto pôde, na úplnú identifikáciu sú nevyhnutné biochemické a (ak je udané) aj imunologické testy použitím čistých kultúr. Ďalšie informácie nájdete v príslušnej literatúre.^{8,10,12}

LITERATÚRA

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. 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 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.

BALENIE/DOSTUPNOST'

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Kat. č. 257562

Pôda v Petriho miskách pripravená na použitie, 20 misiek

Kat. č. 257680

Pôda v Petriho miskách pripravená na použitie, 120 misiek



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 je ochranná známka spoločnosti American Type Culture Collection

BD, logo BD a všetky ostatné ochranné známky sú vlastníctvom spoločnosti Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD

Pozrite si časť „References“ v anglickom texte.

Rx Only

Technické služby a podpora spoločnosti BD Diagnostics: Obráťte sa na miestneho zástupcu spoločnosti BD.