



BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

ПРИЗНАЧЕННЯ

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) використовується для мікробіологічного дослідження сечі. CLED Agar (агар CLED) – це диференціальне середовище культивування для використання під час виділення та підрахунку бактерій у сечі. MacConkey II Agar (агар Макконкі II) – це селективне та диференціальне середовище для виділення та диференціації бактерій *Enterobacteriaceae* та інших грам-негативних паличок у клінічних і неклінічних зразках.

ПРИНЦИПИ ТА ОПИС МЕТОДУ

Мікробіологічний метод

CLED Agar (агар CLED): У 1960 році видання Sandys повідомило про розробку нового методу запобігання росту видів *Proteus* у твердому середовищі за допомогою обмеження електролітів у середовищі культивування, яке потім було змінено кілька разів для використання під час культивування сечі.¹⁻³ Воно розроблялося як середовище агару безсолевого лактозного живильного середовища із цистином (CLED) і було визнане оптимальним для уринарної бактеріології.

В агарі CLED джерелом поживних речовин є пептони та м'ясний екстракт. Лактоза є джерелом енергії для мікроорганізмів, які можуть використовувати її за допомогою ферментативного механізму. Бромтимоловий синій використовується як індикатор pH для відмінності між мікроорганізмами, які здатні ферментувати лактозу, і мікроорганізмами, які не здатні ферментувати лактозу. Мікроорганізми, які ферментують лактозу, знижуватимуть рівень pH і змінюватимуть колір середовища із зеленого на жовтий. Цистин дає змогу рости кишковим паличкам «карликовими колоніями».³ Джерела електроліту зменшуються, щоб мінімізувати ріст видів *Proteus*.

MacConkey II Agar (агар Макконкі II): Одна з перших рецептур середовища для диференціації *Enterobacteriaceae* була розроблена Макконкі, а інформація про неї була опублікована в 1900 та 1905 роках.^{4,5} Ця рецептура була складена з урахуванням того, що солі жовчних кислот випадають в осад під дією кислот, а деякі кишкові мікроорганізми ферментують лактозу, у той же час інші мікроорганізми такої властивості не мають. Пізніше це середовище було модифіковане кілька разів.^{6,7}

Агар Макконкі – це лише злегка селективне середовище, оскільки концентрація солей жовчних кислот, які пригнічують грам-позитивні мікроорганізми, відносно невисока порівняно з іншими середовищами для посіву кишкових культур. Це середовище рекомендується для використання з клінічними зразками, які характеризуються ймовірністю вмісту змішаної мікробної флори, такої як сеча й інші зразки, оскільки це середовище сприяє попередньому групуванню *Enterobacteriaceae* й інших грам-негативних бактерій на мікроорганізми, які здатні та не здатні ферментувати лактозу.⁷⁻¹⁰ Рецептура агару Макконкі II була розроблена для вдосконалення пригнічення росту видів *Proteus* з метою досягнення чіткішої диференціації мікроорганізмів, які здатні та нездатні ферментувати лактозу, і стимулювання росту.

В агарі Макконкі II джерелом поживних речовин є пептони та м'ясний екстракт. Кристалічний фіолетовий пригнічує ріст грам-позитивних бактерій, особливо ентерококів і стафілококів. Диференціація кишкових мікроорганізмів досягається за допомогою комбінації лактози та нейтрального червоного індикатора pH. Залежно від здатності ізоляту до ферментації вуглеводів, утворюються безбарвні колонії або колонії від рожевого до червоного кольору.

Наявність у цій чашці агару CLED і Макконкі II дає змогу визначити загальну кількість і виділити грам-позитивні та грам-негативні бактерії зі зразків сечі.

РЕАГЕНТИ

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Склад* на літр очищеної води

CLED Agar (агар CLED)		MacConkey II Agar (агар Макконкі II)	
Панкреатичний гідролізат желатин	4,0 г	Панкреатичний гідролізат желатину	17,0 г
Панкреатичний гідролізат казеїну	4,0	Панкреатичний гідролізат казеїну	1,5
Яловичий екстракт	3,0	Пептичний гідролізат тваринної тканини	1,5
Лактоза	10,0	Лактоза	10,0
L-цистин	0,128	Солі жовчних кислот	1,5
Бромтимоловий синій	0,02	Хлорид натрію	5,0
Агар	15,0	Нейтральний червоний	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Кристалічний фіолетовий	0,001
		Агар	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

*За необхідності коригується та/або доповнюється для належної ефективності.

ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

Для діагностики In Vitro **IVD** . Тільки для професійного використання. 

Не використовуйте чашки з видимими ознаками мікробного забруднення, зміни кольору, тріщин, висушування та іншими ознаками псування.

ЗБЕРІГАННЯ ТА ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

Після отримання й безпосередньо до використання зберігайте чашки в темряві при температурі від 2 до 8 °C в оригінальній обгортці. Запобігайте замороженню та перегріванню. Чашки можна використовувати для посіву протягом терміну придатності (див. етикетку на упаковці) та інкубувати з дотриманням указанного часу інкубації. Чашки з відкритої стопки по 10 чашок можна використовувати протягом одного тижня за умови зберігання в чистому місці при температурі від 2 до 8 °C.

КОРИСТУВАЦЬКИЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Засійте репрезентативні зразки вказаними нижче штамами (докладніші відомості див. в документі **ЗАГАЛЬНІ ІНСТРУКЦІЇ З ВИКОРИСТАННЯ**). Інкубуйте чашки при температурі 35 ± 2 °C в аеробній атмосфері.

Перевірте чашки через 18 - 24 години на інтенсивність росту, пігментацію, розмір колонії та пригнічення росту або поширення видів *Proteus*.

Штами	CLED Agar (агар CLED)	MacConkey II Agar (агар Макконкі II)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Спостерігається ріст; жовті колонії, жовте середовище	Спостерігається ріст; колонії рожевого кольору
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Спостерігається ріст; колонії безбарвні або сині; ріст бактерій пригнічується; невелике поширення допустиме	Спостерігається ріст; колонії безбарвні або бежевого кольору, ріст бактерій пригнічується
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Спостерігається ріст; колонії безбарвні або жовті; жовте середовище	Часткове або повне пригнічення росту
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Спостерігається ріст; невеликі жовті колонії, жовте середовище	Часткове або повне пригнічення росту
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Спостерігається ріст; невеликі колонії білого або жовтого кольору; жовте середовище	Часткове або повне пригнічення росту
Без посіву	Забарвлення від зеленого до синьо-зеленого	Світло-рожеві, злегка опалесцентні

ПРОЦЕДУРА

Матеріали, що входять у комплект

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (чашки, 90 мм). Продукт пройшов мікробіологічний контроль.

Матеріали, що не входять у комплект

Допоміжні поживні середовища, реагенти та лабораторне обладнання, необхідне для цієї процедури.

Типи та забір зразків

Це середовище призначене виключно для підрахунку та диференціації бактерій у сечі. Можна використовувати середню порцію сечі або сечу, отриману за допомогою катетера чи надлобкової пункції сечового міхура (також див. розділ **ЕФЕКТИВНІСТЬ І ОБМЕЖЕННЯ МЕТОДУ**). Під час забору зразків сечі дотримуйтесь правил асептики. Зразки сечі слід наносити штрихами безпосередньо на середовище не пізніше ніж через 2 години після забору або помістити в холодильник (не довше ніж на 24 години), щоб запобігти надмірному розмноженню збудників інфекцій або інших забрудників перед посівом на середовище.⁸⁻¹¹

Процедура тестування

За допомогою каліброваної петлі (на 0,01 або 0,001 мл) візьміть зразок нерозведеної, добре перемішаної сечі для кожного з двох середовищ цієї чашки. Слідкуйте за тим, щоб відібрати петлею належну кількість зразка. Спочатку засійте зразок сечі на агар CLED, потім другий зразок – на агар Макконкі II. Інкубуйте чашки в аеробних умовах при температурі 35 ± 2 °C протягом 24 - 48 годин. Не інкубуйте у збагаченій CO₂ аеробній атмосфері!

Розрахунок та інтерпретація результатів

Підрахуйте кількість колоній (КУО) у чашці. Якщо для посіву використовувалась петля на 0,01 мл, кожна утворена колонія відповідає концентрації в сечі 100 КУО/мл; якщо використовувалась петля на 0,001 мл, кожна колонія відповідає 1000 КУО/мл.⁸

Середня порція сечі або сеча, отримана за допомогою катетера. За поточними інструкціями, один ізолят концентрацією $\geq 10^5$ КУО/мл свідчить про інфекцію, $<10^5$ КУО/мл вказує на уретральну або вагінальну контамінацію, а при концентрації від 10^4 до 10^5 КУО/мл необхідно провести повторну оцінку з урахуванням клінічних даних.⁸⁻¹¹

Сеча, отримана надлобковою пункцією сечового міхура. Оскільки в неінфікованих пацієнтів сечовий міхур стерильний, будь-яка встановлена концентрація КУО свідчить про наявність інфекції.

Для патогенів, що викликають інфекції сечовивідних шляхів, зазвичай спостерігаються високі концентрації, однакова морфологія колоній, а контамінуючі бактерії зазвичай з'являються в невеликих кількостях і відрізняються за морфологією колоній. У той час як агар CLED дозволяє ріст грам-позитивних і грам-негативних бактерій, грам-позитивні бактерії частково або повністю пригнічуються на агарі Макконкі II. Ріст на середовищі з агаром Макконкі II свідчить про наявність грам-негативних бактерій, наприклад, *Enterobacteriaceae* (таких як *E. coli* та багато інших). Агар CLED і Макконкі II забезпечують лише попередню диференціацію колоній на основі ферментації лактози. Для повної ідентифікації та визначення чутливості до антибіотиків необхідно провести додаткові тести.¹⁰⁻¹²

Типова морфологія колоній в агарі **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)**:

Мікроорганізми	CLED Agar (agar CLED)	MacConkey II Agar (agar Макконкі II)
<i>Escherichia coli</i>	Жовті колонії, непрозорі; жовте середовище	Спостерігається ріст; колонії рожевого кольору
група <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Жовті або світло-сині колонії, часто слизоподібні; жовте середовище	Слизоподібні колонії рожевого кольору
<i>Proteus</i>	Колонії напівпрозорого синього кольору; синьо-зелене або синє середовище	Спостерігається ріст; колонії безбарвні або бежевого кольору, ріст бактерій пригнічується
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Зелені колонії зі звичайною матовою поверхнею та грубою межею периметра; синє середовище	Нерівномірні колонії, від безбарвних до рожевих
Enterococci	Невеликі жовті колонії, жовте середовище	Часткове або повне пригнічення росту
<i>Staphylococcus aureus</i>	Колонії насиченого жовтого кольору, рівномірний колір; жовте середовище	Часткове або повне пригнічення росту
Коагулаза-негативні стафілококи	Блідо-рожеві колонії, більш непрозорі, ніж ентерококи	Часткове або повне пригнічення росту

ЕФЕКТИВНІСТЬ І ОБМЕЖЕННЯ МЕТОДУ

CLED Agar підходить для виділення та підрахунку багатьох аеробних мікроорганізмів, як-от *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* інших неферментуючих грам-негативних паличок, ентерококів, стафілококів, видів *Candida* та багатьох інших бактерій зі зразків сечі.

Стрептококи й інші мікроорганізми, яким для росту необхідна кров або сироватка, можуть бути тільки недостатньо відновлені в цьому середовищі або потребувати додаткової інкубації. Тому зразок необхідно також культивувати в чашці із кров'яним агаром, якщо очікується поява таких мікроорганізмів.

Патогенні сечостатеві мікроорганізми, такі як *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* або інші мікроорганізми з особливими харчовими потребами не будуть рости в цьому середовищі. Відповідні методики виявлення цих мікроорганізмів описано в довідкових матеріалах.^{9,10,12}

Хоча диференціацію на основі ферментації лактози та деякі діагностичні тести можна здійснювати безпосередньо на цьому середовищі, для повної ідентифікації слід провести біохімічні, а за показаннями й імунологічні дослідження з використанням чистих культур.¹⁰⁻¹²

Агар Макконкі II – це одне із стандартних середовищ, які використовуються в основному для первинного засівання клінічних зразків і низки неклінічних матеріалів. У цьому середовищі ростуть всі мікроорганізми родини *Enterobacteriaceae* та низки інших грам-негативних паличок, наприклад, *Pseudomonas* і подібних у межах роду. На цьому середовищі можуть рости мікроорганізми, нездатні ферментувати лактозу, якщо вони стійкі

до селективних компонентів. Перед використанням середовища для певних мікроорганізмів ознайомтеся з відповідними розділами довідкових матеріалів.^{8,10} Повідомляється, що деякі види *Enterobacteriaceae* та *Pseudomonas aeruginosa* пригнічуються в агарі Макконкі під час інкубації в атмосфері, збагаченій CO₂.¹³ Хоча деякі діагностичні тести можна здійснювати безпосередньо на цьому середовищі, для остаточної ідентифікації слід провести біохімічні, а за показаннями й імунологічні дослідження з використанням чистих культур. Див. відповідні довідкові матеріали.^{8,10,12}

ДОВІДКОВІ МАТЕРІАЛИ

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 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. 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.

ПАКУВАННЯ/НАЯВНІСТЬ

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

№ за каталогом: 257562	Готові до використання поживні середовища в чашках, 20 штук
№ за каталогом: 257680	Готові до використання поживні середовища в чашках, 120 штук



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 є торговою маркою Американської колекції типових культур
BD, логотип BD і всі інші торгові марки є власністю компанії Becton, Dickinson and Company. © BD, 2016 р.

Див. «References» (Довідкові матеріали) в англійському тексті.
Тільки за призначенням
Служба технічної підтримки компанії BD Diagnostics: Зв'яжіться з місцевим представником
компанії BD.