

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

ÚČEL POUŽITÍ

Médium BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate) (MacConkeyho agar II BD / agar BD Columbia CNA Agar Improved II s 5 % ovčí krve – dvojité misky) je vylepšené médium používané k selektivní izolaci gramnegativních a grampozitivních bakterií z klinických vzorků.

ZÁSADY A VYSVĚTLENÍ POSTUPU

Mikrobiologická metoda

MacConkeyho agar je jedním z nejstarších agarů (publikoval jej v roce 1900 MacConkey) sloužících k izolaci, kultivaci a identifikaci *Enterobacteriaceae* a určitých nefermentujících druhů. Později bylo toto médium několikrát upravováno.^{1,2}

Složení agaru MacConkey II Agar bylo navrženo v roce 1987 ve snaze zlepšit inhibici plazivých druhů *Proteus* k dosažení definitivnějšího rozlišení fermentujících a nefermentujících bakterií a ke zlepšení růstu enterálních bakterií. V agaru MacConkey II Agar zajišťují výživu peptony. Jeho součástí je krystalová violet inhibující grampozitivní bakterie, zvláště enterokoky a stafylokoky. Rozlišení enterálních mikroorganismů je dosaženo kombinací laktózy a neutrální červeně jako indikátoru pH. Bezbarvé nebo růžové až červené kolonie jsou produkovány v závislosti na schopnosti izolátu fermentovat sacharidy.³⁻⁵

Ellner a kol. publikovali v roce 1966 informace o vývoji složení krevního agaru označeného jako agar Columbia.⁶ Pomocí tohoto média lze získat větší kolonie a výraznější růst než použitím srovnatelných krevních agarových základů. Používá se u médií obsahujících krev a k selektivním složením. Ellner a kol. u něj zjistili, že médium obsahující 10 mg kolistinu a 15 mg kyseliny nalidixové na litr v agarovém základu Columbia obohaceném 5 % ovčí krve bude podporovat růst stafylokoků, hemolytických streptokoků a enterokoků a zároveň bude inhibovat růst druhů *Proteus*, *Klebsiella* a *Pseudomonas*.⁶ S postupem času došlo k nárůstu rezistence bakterií na antimikrobiální přípravky. To platí hlavně pro gramnegativní tyčinky, které by měly být inhibované. Často však na agaru Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (agar Columbia CNA Agar s 5 % ovčí krve) rostou. Agar Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood obsahuje malé množství aztreonamu, který zajišťuje dobrou selektivitu média. Koncentrace kyseliny nalidixové byla snížena na 5,5 mg/L, čímž se zvyšuje zachyt grampozitivních koků, hlavně stafylokoků. Koncentrace kolistinu zůstala na stejné úrovni. Aztreonam je monobaktam působící pouze proti většině gramnegativních bakterií, na grampozitivní mikroby vliv nemá.⁷⁻⁹

Ovčí krev umožňuje detekci hemolytických reakcí, které jsou důležité hlavně při presumptivní diagnostice streptokoků.¹⁰

Hlavní výhodou agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood ve srovnání s agarem Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood je zvýšený růst stafylokoků, které jsou často detekované po 18 až 24 hodinách inkubace, a lepší inhibice rezistentních gramnegativních bakterií, hlavně *Proteus* spp.

Kombinace těchto dvou médií na dvojité misce (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) slouží k selektivní izolaci gramnegativních a grampozitivních bakterií z klinických vzorků.

ČINIDLA

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)
(McConkeyho agar II BD / agar BD Columbia CNA Agar Improved II s 5 % ovčí krve – dvojitá miska)

Vzorce* na litr deionizované vody

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Pankreatická natrávenina želatiny	17,0 g	Peptony	20,0 g
Pankreatická natrávenina kaseinu	1,5	Kvasničný extrakt	3,5
Peptická natrávenina zvířecí tkáň	1,5	Tryptická natrávenina bovinního srdce	3,0
Laktóza	10,0	Kukuřičný škrob	1,0
Žlučové soli	1,5	Chlorid sodný	5,0
Chlorid sodný	5,0	Kolistin	10,0 mg
Neutrální červeň	0,03	Kyselina nalidixová	5,5
Krystalová violet	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Defibrinovaná ovčí krev	5 %
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Upraveno a/nebo doplněno dle potřeby tak, aby byla splněna kritéria účinnosti.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

IVD . Pouze k odbornému použití. ⓧ

Pokud misky vykazují známky mikrobiální kontaminace, změny zabarvení, vysušení, popraskání nebo jiné známky poškození, nepoužívejte je.

Pokyny pro aseptickou manipulaci, informace týkající se biologického nebezpečí a pokyny pro likvidaci použitého produktu naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**.

SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST

Po převzetí až do doby těsně před použitím skladujte misky v originálním pouzdru, v temnu a při teplotě 2 až 8 °C. Chraňte před mrazem a přehřátím. Misky lze inokulovat až do data expirace (viz štítek na obalu) a inkubovat po doporučenou dobu inkubace.

Misky z otevřených sad po 10 kusech lze používat po dobu jednoho týdne, pokud jsou uloženy v čistém prostředí při teplotě 2 až 8 °C.

KONTROLA KVALITY UŽIVATELEM

Inokulujte reprezentativní vzorky následujícími kmeny (podrobné informace naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**). Aerobně inkubujte misky při teplotě 35 až 37 °C po dobu 18 až 24 hodin, ideálně v obrácené poloze.

Kmeny	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Růst dobrý až vynikající, růžové až červené kolonie se žlučovými precipitáty	Úplná inhibice
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Růst dobrý až vynikající, béžové až nahnědlé kolonie; shlukování inhibováno	Úplná inhibice
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	(Částečná až) úplná inhibice	Růst dobrý až výborný, malé šedé kolonie
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Úplná inhibice	Bílé až nažloutlé kolonie s beta-hemolýzou
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Netestováno	Malé, našedlé kolonie, beta-hemolýza
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Netestováno	Malé zelené až šedé kolonie; alfa-hemolýza
Slepý vzorek	Světle růžové, mírně opaleskující	Červené, matné

POSTUP

Dodaný materiál

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
(McConkeyho agar II BD / agar BD Columbia CNA Agar Improved II s 5 % ovčí krve – 90mm dvojité misky **Stacker**). Mikrobiologicky kontrolováno.

Materiál, který není součástí dodávky

Pomocná kultivační média, činidla a laboratorní vybavení dle potřeby.

Typy vzorků

Média obsažená v dvojité misce slouží k selektivní izolaci mnohých gramnegativních a grampozitivních bakterií ze všech typů klinických vzorků (viz také **SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A OMEZENÍ POSTUPU**).

Provedení testu

Co nejdříve po převzetí v laboratoři vzorek rozočkejte. Miska s nátěrem se používá především k izolaci čistých kultur ze vzorků obsahujících smíšenou flóru.

Při inokulaci této dvojité misky vzorky z výtěrů postupujte následovně: Nejdříve jej otřete na malém místě s agarem Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, poté na malém místě s agarem MacConkey II Agar. Pomocí smyčky (na každé médium je nutné použít čerstvou smyčku) rozetřete vzorek z inokulovaných oblastí. Inkubujte v běžné atmosféře po dobu 24 až 48 hodin při teplotě 35 až 37 °C. Tento produkt nedoporučujeme inkubovat v atmosféře obohacené na oxid uhličitý, jelikož se výsledky získané na MacConkeyho agaru mohou lišit od výsledků získaných inkubací v běžné atmosféře.¹¹

Jelikož existují grampozitivní i gramnegativní mikroby, které jsou na obou médiích inhibované nebo nerostou v běžné atmosféře, doporučujeme použít také misku s neselektivním krevním agarem, např. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, kterou budete inkubovat po dobu 24 až 48 hodin při teplotě 35 až 37 °C v aerobní atmosféře obohacené oxidem uhličitým.

Výsledky

Agar **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** vykazuje následující typický růst:

Organismy	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Růžové až růžovo-červené (mohou být obklopeny zónou precipitované žluči)	(Částečná až) úplná inhibice
<i>Enterobacter</i>	Mukoidní, růžové	(Částečná až) úplná inhibice
<i>Klebsiella</i>	Mukoidní, růžové	(Částečná až) úplná inhibice
<i>Proteus</i>	Bezbarvé, plazivý růst potlačen	(Částečná až) úplná inhibice, plazivý růst potlačen
<i>Salmonella</i>	bezbarvé	Úplná inhibice
<i>Shigella</i>	bezbarvé	Úplná inhibice
<i>Pseudomonas</i>	Nepravidelné, bezbarvé až růžové	(Částečná až) úplná inhibice
Stafylokoky	Částečná až úplná inhibice	Rostou; bílé až žluté malé až středně velké kolonie, s beta-hemolýzou nebo bez ní
Streptokoky	Úplná inhibice	Rostou; velmi malé až středně velké kolonie, s beta- či alfa-hemolýzou nebo bez ní
Enterokoky	Částečná až úplná inhibice	Rostou; velmi malé až středně velké kolonie, mohou mít našedlé okraje, obvykle bez hemolýzy

Na těchto médiích mohou růst také jiné gramnegativní a grampozitivní bakterie, které nejsou uvedeny v seznamu výše. Detaily a interpretaci informací o růstu naleznete v odkazech.^{4,10,12}

SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A OMEZENÍ POSTUPU

BD MacConkey II Agar je jedno ze standardních médií používaných pro primární aplikaci na misky u klinických vzorků a nejrozličnějších neklinických materiálů. Na tomto médiu rostou všechny organismy čeledi *Enterobacteriaceae* a mnoho dalších gramnegativních tyčinek, např. *Pseudomonas* a blízké druhy. Nefermentující mikroby nebo jiné gramnegativní tyčinky náchylné

na selektivní složky na tomto médiu nerostou. Před použitím média pro konkrétní mikroby nahlédněte do příslušných kapitol v odkazech.^{4,10,12}

Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood je zlepšené selektivní médium pro izolaci a kultivaci mnoha aerobně rostoucích grampozitivních mikroorganismů, např. streptokoků, stafylokoků, *Listeria* spp a dalších z klinických vzorků. Médium umožňuje rychlejší detekci stafylokoků, enterokoků a streptokoků a lepší inhibici gramnegativních bakterií než agar Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

Při vnitřních hodnoceních účinnosti byl testován růst 38 kmenů (klinické izoláty a definované kmeny ze sbírek) grampozitivních bakterií patřících k druhům uvedeným v tabulce 1 a mnoho gramnegativních bakterií na agaru **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. Jako růstové referenční médium jsme použili agar **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (= COL). Misky byly inkubovány v aerobní atmosféře po dobu 18 až 24 hodin při teplotě 35 až 37 °C.

Kmeny *Proteus* rezistentní na chinolon byly na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood kompletně inhibovány, silně však rostly na agaru MacConkey II Agar a Columbia Agar.

Velikosti kolonií a hemolytické zóny na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood byly srovnatelné s výsledky na agaru Columbia Agar. Všechny grampozitivní kmeny, vyjma *Corynebacterium diphtheriae*, vyrostly na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood do 18 až 20 hodin aerobní inkubace a byly na agaru MacConkey II Agar zcela inhibovány. *C. diphtheriae* potřebovalo 42hodinovou inkubaci. Do testování byly zařazeny stafylokoky, které potřebovaly 2 dny inkubace na běžném agaru Columbia CNA Agar.

Tabulka 1: Grampozitivní druhy testované a zachycené na agaru **BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood** (aerobní inkubace)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus</i> skupina C
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus</i> skupina G
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>	
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	

*K detekci na agaru **CNA-II** a **CNA** je nutná 48hodinová inkubace.

Omezení: Na tomto médiu mohou růst gramnegativní bakterie rezistentní na selektivní složky. Růst druhu *Candida* a jiných hub není na tomto médiu inhibován.

I když se jedná o grampozitivní bakterie, aerobní sporulující mikroby jako *Bacillus* spp. mohou být na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood inhibovány.

Korynebakterie mohou potřebovat 42 až 48 hodin inkubace na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Určité streptokoky, např. *Streptococcus intermedius* a *Streptococcus milleri* potřebují k růstu atmosféru obohacenou o CO₂ nebo anaerobní podmínky.

Základ agaru Columbia obsahuje relativně vysoké množství sacharidů. Z tohoto důvodu může na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood u beta-hemolytických streptokoků dojít k nazelenalé hemolytické reakci, kterou lze mylně považovat za alfa-hemolýzu.

I když na jednom z médií obsažených v produktu **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** poroste široké spektrum gramnegativních a grampozitivních bakterií, doporučujeme použít také neselektivní médium, a zajistit tak primární izolaci všech patogenů, které se mohou ve vzorku nacházet.¹⁰ Agar **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** se často používá jako neselektivní primární médium na misce a lze jej použít také k tomuto účelu. K izolaci náročných mikrobů, jako např. *Neisseria* nebo *Haemophilus*,

doporučujeme inokulovat vzorkem také miskou s čokoládovým agarem, např. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX – agar GC II s činidlem IsoVitaleX)**, pokud lze tyto mikroby očekávat.

Bylo hlášeno, že některé druhy *Enterobacteriaceae* a *Pseudomonas aeruginosa* jsou inhibovány na MacConkeyho agaru při inkubaci v prostředí obohaceném o CO₂.¹¹ Z tohoto důvodu není vhodné agar **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** inkubovat v prostředí obohaceném o CO₂.

Na některých miskách s výrazným růstem stafylokoků na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood v kombinaci s nulovým růstem na agaru MacConkey II Agar bylo pozorováno blednutí média MacConkey II Agar. Tento jev nemá žádný negativní vliv na záchyt a typické zbarvení kolonií gramnegativních bakterií na agaru MacConkey II Agar.

Ačkoli některé diagnostické testy lze na těchto médiích provádět přímo, k provedení úplné identifikace izolátů je nutné biochemické a, je-li indikováno, také imunologické testování pomocí čistých kultur.

ODKAZY

1. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
4. Farmer, J.J., III., K.D. Boatwright, and J.M. Janda 2007. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M.L. Landry, J.H. Jorgensen, and M. A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.
6. Ellner, P.D., C.J. Stoessel, E. Drakeford, and F. Vasi. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. Am. J. Clin. Pathol. 45: 502-504.
7. Wood, W., G. Harvey, E.S. Olson, and T.M. Reid. 1993. Aztreonam selective agar for Gram positive bacteria. J. Clin. Pathol. 46: 769-771.
8. Wiedemann, B., and B. A. Atkinson. 1986. Susceptibility to antibiotics: species incidence and trends. In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 962-1208. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
9. von Graevenitz, A. 1986. Use of antimicrobial agents as tools in epidemiology, identification, and selection of microorganisms. In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 723-738. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
10. Spellerberg, B., Brandt, C. 2007. *Streptococcus*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M.L. Landry, J.H. Jorgensen, and M. A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Mazura-Reetz, G. T. Neblett, and J. M. Galperin. 1979. MacConkey Agar: CO₂ vs. ambient incubation. Abst. Ann. Mtg. American Society for Microbiology. C179.
12. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, Clinical microbiology procedures handbook, vol.1, p. 1.6.1-1.6.7. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

BALENÍ/DOSTUPNOST

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)
(MacConkeyho agar II BD / agar BD Columbia CNA Agar s 5 % ovčí krve – dvojitá miska)

Kat. č.

REF 257574

REF 257584

Popis

Médium na miskách k okamžitému použití, 20 kusů v balení

Médium na miskách k okamžitému použití, 120 kusů v balení

DALŠÍ INFORMACE

Další informace vám poskytne místní zástupce společnosti BD.



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 databáze American Type Culture Collection.

BD, logo BD a Stacker jsou ochranné známky společnosti Becton, Dickinson and Company.

© 2015 Becton, Dickinson and Company