



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

SIHTOTSTARVE

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

(BD MacConkey II agar / Columbia CNA täiustatud II agar 5% lambaverega (petri tass)) on täiustatud sööde, mida kasutatakse gramnegatiivsete ja grampositiivsete bakterite selektiivseks isoleerimiseks kliinilistest proovidest.

TOIMINGU PÕHIMÕTTED JA SELGITUS

Mikrobioloogiline meetod.

MacConkey Agar on üks vanimaid koostisi (selle lõi 1900. aastal MacConkey) bakterite *Enterobacteriaceae* ja teatud fermenteerimatute bakterite isoleerimiseks, kultiveerimiseks ja tuvastamiseks. Seda söödet on hiljem mitmeid kordi muudetud.^{1,2}

MacConkey II Agar töötati välja 1987. aastal *Proteus*'e liigi kiire kasvu inhibeerimise täiendamiseks, et laktoosifermentereid ja laktoosi mittefermenteerivaid baktereid kindlamalt eristada, ning enteeriiliste bakterite paremaks kasvatamiseks. Söötmes MacConkey II Agar on toitaineteks peptoonid. Selles sisalduv kristallviolett inhibeerib grampositiivseid baktereid, eriti enterokokki ja stafülokoki. Enteeriilisi mikroorganisme eristatakse tänu laktoosi ja neutraalpunase pH indikaatori kombinatsioonile. Värvitud või roosad kuni punased kolooniad arenevad olenevalt isolaadi võimest süsivesikut fermenteerida.^{3–5}

Ellner et al. teatasid 1966. aastal uue veriagari väljatöötamisest, mis nimetati Columbia Agariks.⁶ Selles söötmes on suuremad kolooniad ja need kasvavad paremini kui võrreldavatel veriagarilustel ning seda kasutatakse verd sisaldava söötme ja selektiivsete koostiste korral. Ellner et al. leidsid, et sööde, mis sisaldab 5% lambaverega rikastatud Columbia Agari aluses 10 mg kolistiini ja 15 mg nalidiksiinhapet liitri kohta, toetab stafülokoki, hemolüütilise streptokoki ja enterokoki kasvu, inhibeerides samas bakterite *Proteus*, *Klebsiella* ja *Pseudomonas* liikide kasvu.⁶ Bakterite resistentsus antimikroobsetele ainetele on aastate jooksul suurenenud. See kehtib eelkõige gramnegatiivsete kepikeste kohta, mis peaksid olema inhibeeritud, kuid mis kasvavad sageli söötmes Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood. Söötmes Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood sisaldub söötme hea selektiivsuse säilitamiseks väike kogus astreonaami ja nalidiksiinhappe kontsentratsiooni on vähendatud väärtusele 5,5 mg/l, et grampositiivsete kokkide, eriti stafülokoki taastumist suurendada. Kolistiini kontsentratsiooni ei muudetud. Astreonaam on monobaktaam, millel on toime üksnes enamiku gramnegatiivsete bakterite suhtes, ilma et see mõjutaks grampositiivseid organisme.^{7–9} Lambaveri võimaldab tuvastada hemolüütilisi reaktsioone, mis on eriti olulised streptokokkide oletuslikuks diagnoosimiseks.¹⁰

Söötme Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood peamine eelis söötme Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood ees on sagedamini 18 –24 tunnise inkubatsiooni möödudes tuvastatavate stafülokokkide täiustatud kasv ja resistentsete gramnegatiivsete bakterite, eriti *Proteus* spp. parem inhibitsioon.

Nende kahe söötme kombinatsiooni petri tass (BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood) kasutatakse gramnegatiivsete ja grampositiivsete bakterite selektiivseks isoleerimiseks kliinilistest proovidest.

REAGENDID

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

Koostis* liitri puhastatud vee kohta

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Pankrease ensüümidega töödeldud želatiin	17,0 g	Peptoonid	20,0 g
Pankrease ensüümidega töödeldud kaseiin	1,5	Pärmiekstrakt	3,5
Maoensüümidega töödeldud loomne kude	1,5	Trüpsiiniga töödeldud veisesüda	3,0
Laktoos	10,0	Maisitärklis	1,0
Sapphappe soolad	1,5	Naatriumkloriid	5,0
Naatriumkloriid	5,0	Kolistiin	10,0 mg
Neutraalpunane	0,03	Nalidiksiinhape	5,5
Kristallviolett	0,001	Astreonaam	3,0
Agar	13,5	Lambaveri, defibrineeritud	5%
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Vajaduse korral kohandatud ja/või täiendatud toimingute kriteeriumide järgi.

ETTEVAATUSABINÕUD

IVD . Ainult professionaalseks kasutamiseks. ②

Ärge kasutage plaate, kui neil on näha mikrobiaalse saastumise, värvimuutuse, kuivamise, mõranemise ilminguid või teisi riknemise tunnuseid.

Teavet aseptiliste käsitlemisprotseduuride, bioriskide ja kasutatud toote realiseerimise kohta vaadake dokumendist **ÜLDISED KASUTUSJUHISED**.

SÄILITAMINE JA KÕLBLIKUSAEG

Vastuvõtmisel säilitage söötmeplaate pimedas temperatuuril 2 kuni 8 °C originaalpakendis kuni vahetu kasutamiseni. Vältige külmutamist ja ülekuumenemist. Söötmeplaate võib inokuleerida kuni aegumiskuupäevani (vaadake pakendi silti) ja inkubeerida soovitatavate inkubatsiooniaegade jooksul.

Söötmeplaate avatud 10 plaadiga virnast võib kasutada ühe nädala jooksul, kui neid hoida puhtas kohas temperatuuril 2 kuni 8 °C.

KASUTAJA KVALITEEDIKONTROLL

Inokuleerige tüüpproove järgmiste tüvedega (üksikasju vaadake dokumendist **ÜLDISED**

KASUTUSJUHISED). Inkubeerige plaate soovitatavalt ümberpööratud asendis temperatuuril 35 kuni 37 °C aeroobselt 18–24 tundi.

Tüved	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Kasv hea kuni väga hea, sadestunud sapiga roosad kuni punased kolooniad	Täielik inhibitsioon
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Kasv hea kuni väga hea, beežid kuni pruunikad kolooniad, vohamine inhibeeritud	Täielik inhibitsioon
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	(Osaline kuni) täielik inhibitsioon	Kasv hea kuni väga hea, väikesed hallid kolooniad
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Täielik inhibitsioon	Beetahemolüüsiga valged kuni kollakad kolooniad
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Pole katsetatud	Väikesed hallikad kolooniad, beetahemolüüs
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Pole katsetatud	Väikesed rohelised kuni hallid kolooniad, alfa-hemolüüs
Inokuleerimata	Heleroosa, veidi sillerdav	Punane, läbipaistmatu

PROTSEDUUR

Komplekti kuuluvad materjalid

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (90 mm Stackeri petri tassid). Mikrobioloogiliselt kontrollitud.

Komplekti mittekuuluvad materjalid

Abistav kultuursööde, nõutavad reagentid ja laborivarustus.

Proovide tüübid

Sellel petri tassil olevat söödet kasutatakse paljude gramnegatiivsete ja grampositiivsete bakterite selektiivseks isoleerimiseks igat tüüpi kliinilistest proovidest (vt ka jaotist

RESULTATIIVSUSE KARAKTERISTIKUD JA TOIMINGU PIIRANGUD).

Katse toiming

Külvake isoleeritav proov võimalikult kiiresti pärast materjali saabumist laborisse. Esmalt toimub külviplaadil segafloorat sisaldavast materjalist puhaskultuuri isoleerimine.

Petri tassi inokuleerimiseks tampoonidel olevate proovidega veeretage tampooni esmalt väikesel alal söötmes Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood ja pärast seda väikesel alal söötmes MacConkey II Agar. Isoleerimiseks külvake inokuleeritud aladelt söödet viirgudena, kasutades iga söötme jaoks uut külviaasa. Inkubeerige tassi 24–48 tundi ümbritseva õhu käes temperatuuril 35–37 °C. Toodet ei ole soovitatav inkubeerida süsinikdioksiidirikka õhu käes, kuna söötmega MacConkey Agar saadud tulemused võivad erineda ümbritseva õhu käes inkubeerimisel saadud tulemustest.¹¹

Kuna on grampositiivseid ja gramnegatiivseid organisme, mida inhibeeritakse selle petri tassi mõlemas söötmes või mis ei kasva ümbritseva õhu käes, on soovitatav kasutada ka mitteselektiivset veriagari plaati, nt söödet **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (lamba veri), mida inkubeeritakse 24–48 tundi süsinikdioksiidirikkas aeroobses keskkonnas temperatuuril 35–37 °C.

Tulemused

Söötme **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** tüüpilised kasvu tulemused on järgmised.

Organismid	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Roosad kuni roosakasilillakad (neid võib ümbritseda sadestunud sapp)	(Osaline kuni) täielik inhibitsioon
<i>Enterobacter</i>	Mukoidsed, roosad	(Osaline kuni) täielik inhibitsioon
<i>Klebsiella</i>	Mukoidsed, roosad	(Osaline kuni) täielik inhibitsioon
<i>Proteus</i>	Värvitud, vohamine inhibeeritud	(Osaline kuni) täielik inhibitsioon, vohamine inhibeeritud
<i>Salmonella</i>	Värvitud	Täielik inhibitsioon
<i>Shigella</i>	Värvitud	Täielik inhibitsioon
<i>Pseudomonas</i>	Ebakorrapärased, värvitud kuni roosad	(Osaline kuni) täielik inhibitsioon
Stafülokokid	Osaline kuni täielik inhibitsioon	Kasv, valged kuni kollased, beetahemolüüsiga või beetahemolüüsita väikesed kuni keskmise suurusega kolooniad
Streptokokid	Täielik inhibitsioon	Kasv, alfa- või beetahemolüüsiga või alfa- või beetahemolüüsita väga väikesed kuni keskmise suurusega kolooniad
Enterokokid	Osaline kuni täielik inhibitsioon	Kasv, väga väikesed kuni keskmise suurusega kolooniad, võivad olla hallikate äärtega, tavaliselt mittehemolüütilised

Nendes söötmetes võivad kasvada ka muud gramnegatiivsed ja grampositiivsed bakterid, mida pole eespool nimetatud. Kasvu üksikasju ja tõlgendamisevõimalusi vaadake viitematerjalidest.^{4,10,12}

RESULTATIIVSUSE KARAKTERISTIKUD JA PROTSEDUURI PIIRANGUD

BD MacConkey II Agar on üks standardsöötmetest, mida kasutatakse kliiniliste proovide ja mitmete mittekliiniliste materjalide peamise söötmeplaadina. Selles söötmes kasvavad kõik *Enterobacteriaceae* sugukonda kuuluvad organismid ja mitmed teised gramnegatiivsed kepikead, nt *Pseudomonas*, ja sellega seotud perekonnad. Selles söötmes ei kasva valitud

koostisosade suhtes tundlikud mittefermenteerivad ained ega muud gramnegatiivsed kepikesed. Enne söötme kasutamist kindlate organismidega lugege viidetes toodud vastavaid peatükke.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood on täiustatud selektiivne sööde paljude aeroobsetes tingimustes kasvavate grampositiivsete mikroorganismide, nagu streptokokid, stafülokokid, *Listeria* spp jt, isoleerimiseks ja kultiveerimiseks kliinilistest proovidest. Sööde võimaldab stafülokokke, enterokokke ja streptokokke kiiremini tuvastada ning gramnegatiivseid baktereid paremini inhibeerida kui see on võimalik söötmega Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

Resultatiivsuse sisemisel hindamisel tuvastati tabelis 1 nimetatud grampositiivsete bakterite liikide 38 tüve (kliinilised isolaadid ja kogutud tüved) ning paljude gramnegatiivsete bakterite kasv söotmel **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. Kasvu võrdlussöötmena kasutati söödet **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)**. Plaatte inkubeeriti 18–24 tundi aeroobses keskkonnas temperatuuril 35–37 °C.

Kvinoloonile resistentseid bakteri *Proteus* tüvesid inhibeeriti täielikult söotmel Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, kuid söotmetel MacConkey II Agar ja Columbia Agar oli tulemuseks suur kasv.

Kolooniate suurused ja hemolüütilised tsoonid on söötmes Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood söötme Columbia Agar omadega võrreldavad. Kõik grampositiivsed tüved peale *Corynebacterium diphtheriae* kasvasid söötmes Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood 18–20 tunnise aeroobse inkubatsiooni jooksul ja neid inhibeeriti täielikult söötmes MacConkey II Agar. *C. diphtheriae* inkubeerimiseks kulus 42 tundi. Katsetati ka stafülokokke, mille inkubeerimine võttis tavalisel söotmel Columbia CNA Agar aega 2 päeva.

Tabel 1. Söotmel BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood katsetatud ja väljakülvatud grampositiivsed proovid (aeroobne inkubatsioon)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus</i> rühm C
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus</i> rühm 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>	

* Söotmetel CNA-II ja CNA tuvastamiseks on vaja 48-tunnist inkubatsiooni.

Piirangud. Selles söötmes võivad kasvada valitud koostisosadele resistentseid gramnegatiivseid baktereid.

Candida liike ja muid seeni sellel söotmel ei inhibeerita.

Kuigi tegemist on grampositiivsete bakteritega, võidakse spoore moodustavaid aeroobseid baktereid, nagu *Bacillus* spp., söotmel Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood inhibeerida.

Korünebaktereid võib olla vaja söötmes Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood 42–48 tundi inkubeerida.

Teatud streptokokid, nagu *Streptococcus intermedius* ja *Streptococcus milleri*, vajavad kasvuks süsinikdioksiidirikast või anaeroobset keskkonda.

Columbia Agari alus sisaldab üsna palju süsivesikuid. Seetõttu võivad beetahemolüütilised streptokokid tekitada roheka hemolüütilise reaktsiooni, mida võidakse ekslikult pidada alfa hemolüüsiks söötmes Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Kuigi ühes petri tassis **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** sisalduvas söötmes kasvab suur hulk erinevaid gramnegatiivseid ja grampositiivseid baktereid, on soovitatav kasutada kõikide proovis sisalduda võivate

patogeenide esmaseks isolatsiooniks mitteselektiivset söödet.¹⁰ **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** on selleks otstarbeks sobiv sageli kasutatav mitteselektiivne esmane söötmeplaat. Nõudlike organismide, nagu *Neisseria* või *Haemophilus*, isoleerimiseks tuleb prooviga inokuleerida ka šokolaadagar, nt **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)**, kui kahtlustatakse selliste organismide olemasolu.

CO₂-rikkas keskkonnas inkubeerimisel on täheldatud söötmes MacConkey Agar bakterite *Enterobacteriaceae* ja *Pseudomonas aeruginosa* inhibeerimist.¹¹ Seetõttu ei tohi söödet **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** CO₂-rikkas keskkonnas inkubeerida.

Mõnel söötmele Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood külvatud suure stafülokokkide kasvuga plaadil on täheldatud söötme MacConkey II Agar värvi tuhmumist. See ei avalda gramnegatiivsete bakterite väljakülvamisele ja koloonia tüüpilisele värvumisele söötmes MacConkey II Agar negatiivset mõju.

Kuigi neile söötmetele saab teha kindlaid diagnostilisi katseid, tuleb isolaatide lõplikuks määramiseks kasutada biokeemilisi katseid ja vajaduse korral immunoloogilisi katseid.

VIITED

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.

PAKKIMISVIIS/KÄTTESAADAVUS

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

Kat nr	Kirjeldus
REF 257574	Kasutusvalmis plaatidel sööde, PMÜ 20
REF 257584	Kasutusvalmis plaatidel sööde, PMÜ 120

LISATEAVE

Lisateabe saamiseks võtke ühendust BD kohaliku esindajaga.



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 on ettevõtte American Type Culture Collection kaubamärk.

BD, BD logo ja Stacker on ettevõtte Becton, Dickinson and Company kaubamärgid.

© 2015 Becton, Dickinson and Company