

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

NAUDOJIMO PASKIRTIS

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate) (su 5 % avies kraujo) yra patobulinta terpė, skirta klinikinių mėginių gramneigiamoms ir gramteigiamoms bakterijoms selektyviai izoliuoti.

PROCEDŪROS PRINCIPAI IR PAAIŠKINIMAS

Mikrobiologinis metodas.

MacConkey agaras yra viena iš ankstyvųjų formulių (1900 m. ją paskelbė MacConkey), skirta izoliuoti, kultivuoti ir identifikuoti *Enterobacteriaceae* ir atskirus nefermentuojančius mikroorganizmus. Vėliau ši terpė buvo kelis kartus modifikuota.^{1,2}

1987 m. MacConkey II agaro formulė buvo sukurta drumstų *Proteus* rūšių augimo apribojimui pagerinti, kad būtų galima geriau diferencijuoti laktozę fermentuojančius ir nefermentuojančius mikroorganizmus bei užtikrinti geresnį enterinių bakterijų augimą. MacConkey II agaro peptonai tiekia maistines medžiagas. Kristalinis violetas skirtas gramteigiamų bakterijų, ypač enterokokų ir stafilokokų, augimui apriboti. Enterinių mikroorganizmų diferenciacija užtikrinama naudojant laktozę ir neutralų raudoną pH indikatorių. Atsižvelgiant į izoliato gebėjimą fermentuoti angliavandenilį, gaunamos bespalvės arba nuo rausvos iki raudonos spalvos kolonijos.³⁻⁵

1966 m. Ellner ir kt. paskelbė apie sukurta naują kraujo agaro receptūrą, pavadintą „Columbia“ agaru⁶. Ši terpė, pasižyminti gausesnėmis kolonijomis ir spartesniu augimu negu kitos kraujo agaro terpės, naudojama terpei, kurios sudėtyje yra kraujo, ir tam tikroms formulėms. Ellner ir kt. pastebėjo, kad terpėje, kurią sudaro 10 mg kolistino ir 15 mg naldiksinės rūgšties „Columbia“ agaro pagrindo litre su 5 % avies kraujo, palaiko stafilokokų, hemolizinių streptokokų ir enterokokų augimą, slopinant *Proteus*, *Klebsiella* ir *Pseudomonas* rūšių augimą.⁶ Bėgant metams padidėjo bakterijos atsparumas antimikrobinėms medžiagoms. Ypač tai tinka gramneigiamoms lazdelėms, kurio turi būti slopinamos, tačiau dažnai pasižymi augimu „Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood“ terpėje. „Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood“ terpėje naudojamas nedidelis kiekis aztreonamo, kad būtų galima išlaikyti gerą selektyvumą, o naldiksinės rūgšties koncentracija buvo sumažinta iki 5,5 mg/L, kad padidėtų gramteigiamų kokių, ypač stafilokokų, augimas. Kolistino koncentracija liko nepakitusi. Aztreonamas yra monobaktamas, pasižymintis poveikiu tik prieš daugelį gramneigiamų bakterijų, o gramteigiami mikroorganizmai lieka nepaveikti.⁷⁻⁹ Avies kraujas padeda aptikti hemolitinės reakcijas, kurios yra ypač svarbios preliminariai streptokokų diagnozei.¹⁰

Pagrindinis „Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood“ pranašumas prieš „Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood“ yra pagerintas stafilokokų augimas, kurie dažniau aptinkami po 18 – 24 inkubacijos valandų, ir geresnis atsparių gramneigiamų bakterijų slopinimas, ypač *Proteus* rūšies.

Šių dviejų terpių derinys dvigubojame lėkštelėje („**BD MacConkey II Agar**“ / „**Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**“) naudojamas klinikinių mėginių gramteigiamoms ir gramneigiamoms bakterijoms selektyviai izoliuoti.

REAGENTAI

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

Sudėtis* litrai ištirpinant vandens

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Kasos fermentais hidrolizuotas želatina	17,0 g	Peptonai	20,0 g
Kasos fermentais hidrolizuotas kazeinas	1,5	Mielų ekstraktas	3,5
Pepsinu hidrolizuoti gyvūnų audiniai	1,5	„Tryptic“ jaučio širdies hidrolizatas	3,0
Laktozė	10,0	Kukurūzų krakmolai	1,0
Tulžies druskos	1,5	Natrio chloridas	5,0
Natrio chloridas	5,0	Kolistinas	10,0 mg
Neutralus raudonis	0,03	Nalidiksino rūgštis	5,5
Kristalinas violetas	0,001	Aztreonamas	3,0
Agaras	13,5	Defibrinuotas avies kraujas	5 %
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Koreguojama ir (arba) papildoma pagal poreikį, kad atitiktų veikimo kriterijus.

ATSARGUMO PRIEMONĖS

IVD . Skirta naudoti tik specialistams. ②

Nenaudokite lėkštelių, jei yra mikrobinės taršos, pakitusios spalvos, išdžiūvimo, įskilimo ar kitokių kokybės pablogėjimo požymių.

Informacijos apie aseptinio naudojimo procedūras, biologinius pavojus ir panaudoto gaminių išmetimą žr. **BENDROSIOSE NAUDOJIMO INSTRUKCIJOSE**.

LAIKYMO SĄLYGOS IR TINKAMUMO LAIKAS

Gautas lėkšteles iki pat naudojimo pradžios laikykite tamsioje vietoje 2 – 8 °C temperatūroje movos pavidalo gamintojo pakuotėje. Neužšaldykite ir neperkaitinkite. Lėkštelėse galima sėti iki galiojimo laiko pabaigos (žr. etiketėje ant pakuotės), o jas inkubuoti – atsižvelgiant į rekomenduojamą inkubavimo laiką.

Atidarius 10 lėkštelių pakuotę švarioje aplinkoje 2 – 8 °C temperatūroje lėkšteles galima laikyti iki vienos savaitės.

NAUDOTOJO ATLIEKAMA KOKYBĖS KONTROLĖ

Į pavyzdines lėkšteles pasėkite šias padermes (smulkesnė informacija pateikiama **BENDROSIOSE NAUDOJIMO** taisyklėse). Lėkšteles, geriausia apverstas, aerobinėmis sąlygomis inkubuokite 35 – 37 °C temperatūroje 18 – 24 val.

Padermės	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Geras ar puikus augimas, rožinės ar raudonos kolonijos su precipituota tulžimi	Visiškas slopinimas
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Geras ar puikus augimas, šviesios smėlio ar rusvos spalvos kolonijos, ribotas drumstumas	Visiškas slopinimas
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Dalinis (ar visiškas) slopinimas	Geras ar puikus augimas; nedidelės pilkos kolonijos
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Visiškas slopinimas	Baltos ar gelsvos kolonijos; beta hemolizė
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Neištbandyta	Mažos pilkšvos kolonijos; beta hemolizė
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Neištbandyta	Mažos žalios ar pilkos kolonijos; alfa hemolizė
Nesėta	Šviesiai rausva, šiek tiek opalescuojanti	Raudona, matinė

PROCEDŪRA

Tiekiamos medžiagos

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (90 mm Stacker dvigubos lėkštelės). Mikrobiologiškai kontroliuojama.

Netiekiamos medžiagos

Papildomos mitybos terpės, reagentai ir reikalinga laboratorinė įranga.

Mėginių tipai

Šioje dviguboje lėkštelėje esančios terpės naudojamos visų tipų klinikinių mėginių daugeliui gramneigiamų ir gramteigiamų bakterijų selektyviai izoliuoti (taip pat žr. **VEIKIMO CHARAKTERISTIKA IR PROCEDŪROS APRIBOJIMAI**).

Tyrimo procedūra

Laboratorijoje gautą mėginį kuo greičiau pasėkite brūkšniais. Ruoželiais užsėta lėkštelė visų pirma naudojama grynoms kultūroms iš mišrią florą turinčių mėginių išskirti.

Norėdami ant šios dvigubos lėkštelės paskleisti mėginius nuo tepinėlių, švelniai paritinėkite juos mažame „Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood“ paviršiaus plote, tada mažame „MacConkey II Agar“ paviršiaus plote. Kiekvienai terpei naudodami naujas kilpeles, užsėkite brūkšniais, kad kolonijos atsiskirtų. Inkubuokite įprastoje aplinkoje 24 – 48 valandas 35 – 37 °C temperatūroje. Nerekomenduojama inkubuoti produkto anglies dvideginiu prisotintoje aplinkoje, nes „MacConkey Agar“ rezultatai gali skirtis nuo rezultatų, gautų inkubuojant įprastoje aplinkoje.¹¹

Šios dvigubos lėkštelės terpėse yra paskleistų gramteigiamų ir gramneigiamų mikroorganizmų, kurie nesidaugina įprastoje aplinkoje, rekomenduojame įtraukti neselektyvaus kraujo agaro lėkštelę, pvz., **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, kuri inkubuojama 24 – 48 valandas 35 – 37 °C temperatūroje anglies dvideginiu prisotintoje aplinkoje.

Rezultatai

Įprasti augimo rezultatai **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**:

Organizmai	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Rausvos ar rausvai violetinės spalvos kolonijos (gali būti apsuptos precipituotos tulžies sritimi)	Dalinis (ar visiškas) slopinimas
<i>Enterobacter</i>	Gleivingos, rausvos	Dalinis (ar visiškas) slopinimas
<i>Klebsiella</i>	Gleivingos, rausvos	Dalinis (ar visiškas) slopinimas
<i>Proteus</i>	Bespaltvės, ribotas drumstumas	Dalinis ar visiškas slopinimas; ribotas drumstumas
<i>Salmonella</i>	Bespaltvė	Visiškas slopinimas
<i>Shigella</i>	Bespaltvė	Visiškas slopinimas
<i>Pseudomonas</i>	Nevienalytės bespalvės ar rausvos	Dalinis (ar visiškas) slopinimas
Stafilokokai	Dalinis ar visiškas slopinimas	Augimas; baltos ar geltonos, mažos ar vidutinio dydžio kolonijos su betahimolize ar be jos
Streptokokai	Visiškas slopinimas	Augimas; mažos ar vidutinio dydžio kolonijos su betahimolize arba alfa hemolize ar be jų
Enterokokai	Dalinis ar visiškas slopinimas	Augimas; mažos ar vidutinio dydžio kolonijos, gali būti pilkšvi kraštai, paprastai be hemolizės

Šiose terpėse gali augti kitos, pirmiau neišvardytos gramteigiamos ir gramneigiamos bakterijos. Išsamesnės informacijos apie augimo interpretavimą žr. literatūros nuorodose.^{4,10,12}

VEIKIMO CHARAKTERISTIKA IR PROCEDŪROS APRIBOJIMAI

BD MacConkey II Agar yra viena iš standartinių terpių, naudojamų kaip klinikinių mėginių ir įvairių neklinikinių medžiagų pirminės lėkštelės. Šioje terpėje auga visi *Enterobacteriaceae* šeimos mikroorganizmai ir daugelis kitų gramneigiamų lazdelių, pvz., *Pseudomonas* ir susijusios rūšys. Nefermentuojantys mikroorganizmai ar kitos gramneigiamos lazdelės, jautrios selektyvioms medžiagoms, šioje terpėje neauga. Prieš naudodami terpę konkreitiems mikroorganizmams, perskaitykite atitinkamus skyrius.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood yra patobulinta selektyvioji terpė, skirta izoliuoti ir kultivuoti daugelį aerobinėje aplinkoje auginamų gramteigiamų mikroorganizmų, pvz., streptokokus, stafilokokus, *Listeria* rūšies ir kitus klinikiniuose mėginiuose. Terpėje galima greičiau aptikti stafilokokus, enterokokus ir streptokokus bei efektyviau slopinti gramneigiamas bakterijas, negu naudojant „Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood“.

Atliekant vidinius veikimo vertinimus, 38 padermės (grynosios kultūros ir sukauptos padermės) gramteigiamų bakterijų, priklausančių rūšims, paminėtoms 1 lentelėje, ir daugelis gramneigiamų bakterijų buvo auginamos naudojant **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)** buvo naudojama kaip kontrolinė augimo terpė. Lėkštelės buvo inkubuojamos aerobinėje aplinkoje 18 – 24 val. 35 – 37 °C temperatūroje.

Chinoloniui atsparios *Proteus* padermės buvo visiškai nuslopintos „Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood“, bet pasižymėjo gausiu augimu „MacConkey II Agar“ ir „Columbia Agar“.

Kolonijų dydžiai ir hemolizės sritys „Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood“ buvo palygintos su „Columbia Agar“. Visos gramteigiamos padermės, išskyrus *Corynebacterium diphtheriae*, pasižymėjo augimu „Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood“ per 18 – 20 val. inkubavimo aerobinėje aplinkoje ir buvo visiškai nuslopintos „MacConkey II Agar“. *C. diphtheriae* prireikė 42 inkubavimo valandų. Į tyrimus buvo įtraukti stafilokokai, kuriems reikia 2 inkubavimo dienų naudojant įprastą „Columbia CNA“ agarą.

1 lentelė: gramteigiamos rūšys, išbandytos ir išaugintos naudojant „BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood“ (inkubavimas aerobinėje aplinkoje)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus C grupė</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus G grupė</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus xylosum</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>	

* 48 inkubavimo valandų prireikė aptikti naudojant **CNA-II** ir **CNA**.

Apribojimai: šioje terpėje gali augti gramneigiamos bakterijos, atsparios selektyvioms medžiagoms.

Candida rūšis ir kiti grybai šioje terpėje neslopunami.

Aerobiniai sporas sudarantys mikroorganizmai, nors jie yra gramteigiamos bakterijos, pvz., *Bacillus* rūšies, gali būti nuslopintos naudojant „Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood“.

„Corynebacteria“ inkubavimui gali prireikti 42 – 48 valandų naudojant „Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood“.

Tam tikrų streptokokų, pvz., *Streptococcus intermedius* ir *Streptococcus milleri* augimui būtina CO₂ praturtinta ar anaerobinė aplinka.

„Columbia Agar“ pagrindas pasižymi santykinai dideliu angliavandenių kiekiu. Todėl betahemoliziniai streptokokai gali sukelti žalsvą hemolizinę reakciją, kurią galima supainioti su alfa hemolize naudojant „Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood“.

Nors daug įvairių gramneigiamų ir gramteigiamų bakterijų auga vienoje iš **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** terpių, rekomenduojame įtraukti neselektyvią terpę pirminiam visų patogenų, kurie gali būti mėginyje, izoliavimui.¹⁰ **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** yra dažnai šiuo tikslu naudojama neselektyvi pirminė lėkštelės terpė. Reikliesiems mikroorganizmams, pvz., *Neisseria* ar *Haemophilus*, šokoladinio agaro lėkštelė, pvz., **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalEx)** turėtų būti užsėta ta rūšimi, jeigu tikimasi šių mikroorganizmų.

Atsižvelgiant į rezultatus, kai kurios *Enterobacteriaceae* ir *Pseudomonas aeruginosa* bakterijos slopinamos naudojant „MacConkey Agar“, kai inkubuojama CO₂ praturtintoje aplinkoje.¹¹ Todėl **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** neturėtų būti inkubuojama CO₂ praturtintoje aplinkoje.

Kai kuriose lėkštelėse, kuriose stebėtas aktyvus stafilokokų augimas naudojant „Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood“ terpę ir nebuvo augimo naudojant „MacConkey II Agar“, buvo pastebėtas „MacConkey II Agar“ terpės spalvos blukimas. Tai nedaro neigiamos įtakos augimui ir įprastai kolonijos spalvai esant gramneigiamai bakterijai ant „MacConkey II Agar“.

Nors kai kuriuos diagnostinius tyrimus galima atlikti tiesiogiai šiose terpėse, norint galutinai identifikuoti izoliatus, būtina atlikti biocheminius, ir, prireikus, imunologinius grynujų kultūrų tyrimus.

LITERATŪRA

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.

PAKUOTĖ / GALIMA ĮSIGYTI

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

Kat. Nr. Aprašymas

REF 257574	Paruošta naudoti terpė lėkštelėje; 20 pakuotėje
REF 257584	Paruošta naudoti terpė lėkštelėje; 120 pakuotėje

PAPILDOMA INFORMACIJA

Papildomos informacijos kreipkitės į vietinį BD atstovą.



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 yra „American Type Culture Collection“ prekės ženklas

BD, BD logotipas ir „Stacker“ yra „Becton, Dickinson and Company“ prekės ženklai.

© Becton, Dickinson and Company, 2015 m.