

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

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate) (BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II ar 5 % aitas asinīm) ir uzlabotas barotnes selektīvai gramnegatīvo un grampozitīvo baktēriju izolācijai no klīniskiem paraugiem.

PROCEDŪRAS PRINCIPI UN IZSKAIDROJUMS

Mikrobioloģiskā metode.

Barotnes MacConkey Agar recepte ir viena no pirmajām (publicējis MacConkey 1900. gadā) *Enterobacteriaceae* un noteiktu nefermentējošo mikroorganismu izolācijai, audzēšanai un noteikšanai. Vēlāk barotne tika vairākas reizes modificēta.^{1,2}

Barotnes MacConkey II Agar sastāvs tika izveidots 1987. gadā ar nolūku uzlabot *Proteus* ģints mikroorganismu izplatīšanās inhibēšanu, padarīt precīzāku mikroorganismu diferenciāciju laktozi fermentējošos un laktozi nefermentējošos mikroorganismus un uzlabot zarnu baktēriju augšanu. Barotnē MacConkey II Agar barības vielas nodrošina peptoni. Kristālvioletā krāsvielā ir pievienota grampozitīvo baktēriju, īpaši enterokoku un stafilokoku, inhibēšanai. Zarnu mikroorganismu diferenciācija tiek panākta, izmantojot laktozes un neitrāli sarkanā pH indikatora kombināciju. Bezkrāsainas vai sārtas līdz sarkanas krāsas kolonijas veidojas atkarībā no izolāta spējas fermentēt ogļhidrātus.³⁻⁵

1966. gadā Ellner et al. ziņoja par asins agara sastāva izstrādāšanu, kas tika nosaukts par Columbia Agar⁶ Barotne, iegūstot lielākas kolonijas un bagātīgāku uzaugumu kā uz citām līdzīgām barotnēm uz asins agara bāzes, tiek izmantota barotnēm, kas satur asinis, un selektīvām receptēm. Ellner et al. atklāja, ka barotne, kas uz litru Columbia agara bāzes satur 10 mg kolistīnu, 15 mg nalidiksīnskābi un bagātināta ar 5 % aitas asinīm, uzlabo stafilokoku, hemolītisko streptokoku un enterokoku augšanu, vienlaicīgi kavējot *Proteus*, *Klebsiella* un *Pseudomonas* ģinšu mikroorganismu augšanu.⁶ Gadu gaitā baktēriju rezistence pret antimikrobiālajiem aģentiem ir palielinājusies. Tas īpaši attiecas uz gramnegatīvajām nūjiņām, kuru augšanai pēc būtības būtu jābūt kavētai, taču to kolonijas bieži tiek konstatētas uz Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood barotnes. Barotnei Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood ir pievienots neliels daudzums aztreonāma, lai saglabātu barotnes selektivitāti, savukārt nalidiksīnskābes koncentrācija ir samazināta līdz 5,5 mg/L, lai palielinātu grampozitīvo koku, īpaši stafilokoku, noteikšanu. Kolistīna koncentrācija paliek nemainīga. Aztreonāms ir monobaktāms, kas darbojas tikai pret vairumu gramnegatīvo baktēriju, neiedarbojoties pret grampozitīvajiem mikroorganismiem.⁷⁻⁹ Aitas asiņu klātbūtne ļauj konstatēt hemolītiskās reakcijas, kas ir īpaši svarīgi varbūtējai streptokoku diagnostikai.¹⁰

Barotnes Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood galvenā priekšrocība salīdzinājumā ar barotni Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood ir uzlabota stafilokoku augšana, kuri tiek bieži noteikti pēc 18 līdz 24 stundu inkubācijas un labāka rezistentu gramnegatīvo baktēriju augšanas ierobežošana, īpaši *Proteus* ģints mikroorganismu.

Šo divu barotņu apvienošana biplatē (**BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) tiek izmantota selektīvai gramnegatīvo un grampozitīvo baktēriju izolācijai no klīniskajiem paraugiem.

REAGENTI

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

Formulas* Litrā attīrīta ūdens

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Želatīna pankreātiskais peptons	17,0 g	Peptoni	20,0 g
Kazeīna pankreātiskais peptons	1,5	Rauga ekstrakts	3,5
Dzīvnieka audu pepsīna ekstrakts	1,5	Liellopa sirds tripsīna ekstrakts	3,0
Laktoze	10,0	Kukurūzas ciete	1,0
Žultskābes sāļi	1,5	Nātrija hlorīds	5,0
Nātrija hlorīds	5,0	Kolistīns	10,0 mg
Neitrāli sarkanais	0,03	Nalidiksīnskābe	5,5
Kristālvioletais	0,001	Aztreonāms	3,0
Agars	13,5	Aitas asinis, defibrinētas	5 %
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Pēc nepieciešamības pielāgots un/vai papildināts, lai sasniegtu veikspējas kritērijus.

PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

IVD . Paredzēts tikai profesionālai lietošanai. 

Neizmantojiet plates, ja pamanāt mikrobiāla piesārņojuma pazīmes, krāsas maiņu, izžūšanu, saplaisāšanu vai citas bojājuma pazīmes.

Lai iegūtu sīkāku informāciju par aseptiskām apstrādes procedūrām, bioloģisko bīstamību un izlietojo produktu iznīcināšanu, skatiet dokumentu **VISPĀRĒJI NORĀDĪJUMI PAR LIETOŠANU** .

UZGLABĀŠANA UN GLABĀŠANAS LAIKS

Saskaņā ar recepti uzglabāiet plates tumsā, no 2 līdz 8 °C temperatūrā, oriģinālajā uzmavas iesaiņojumā, no iepakojuma izņemot tikai pirms lietošanas. Nepieļaut sasaldēšanu un pārkaršanu. Uz platēm var veikt uzsēju, kā arī veikt to inkubāciju noteikto inkubācijas laiku līdz pat barotņu derīguma termiņa beigām (skatīt etiķeti uz iepakojuma).

Plates no atvērta 10 plātņu iepakojuma drīkst izmantot vienu nedēļu, ja tās tiek uzglabātas tīrā vietā 2 līdz 8 °C temperatūrā.

LIETOTĀJA KVALITĀTES KONTROLE

Raksturīgo paraugu uzsējumi ar tālāk norādītajiem celmiem (lai iegūtu sīkāku informāciju, skatiet dokumentu **VISPĀRĒJI NORĀDĪJUMI PAR LIETOŠANU**). Veiciet plašu inkubāciju, vēlama tās apgriezt otrādi, anaerobos apstākļos temperatūrā no 35 līdz 37 °C 18-24 stundas.

Celmi	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Labs līdz teicams uzaugums; koloniju krāsa no sārtas līdz sarkanai ar žults nogulsniem	Pilnīga inhibēšana
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Labs līdz teicams uzaugums; koloniju krāsa no smilškrāsas līdz brūnganai; izplatība ierobežota	Pilnīga inhibēšana
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	(Daļēja līdz) pilnīga inhibēšana	Labs līdz teicams uzaugums; mazas, pelēkas krāsas kolonijas
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Pilnīga inhibēšana	Baltas līdz dzeltenīgas krāsas kolonijas ar beta hemolīzes pazīmēm
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Nav veikti testi	Kolonijas mazas, pelēcīgas; beta hemolīze
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Nav veikti testi	Kolonijas mazas, no zaļas līdz pelēkai krāsai; alfa hemolīze
Bez uzsējuma	Viegli sāta, viegli opalescējoša	Sarkana, opalescējoša

PROCEDŪRA

Nodrošinātie materiāli

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (90 mm Stacker biplates). Mikrobioloģiski kontrolēti.

Nenodrošinātie materiāli

Palīgbarotne, reaģenti un nepieciešamais laboratorijas aprīkojums.

Paraugu veidi

Šajā biplatē esošās barotnes tiek izmantotas daudzu gramnegatīvo un grampozitīvo baktēriju selektīvai izolēšanai no visu veidu klīniskajiem paraugiem (skatiet arī sadaļu **VEIKTSPĒJAS RAKSTUROJUMS UN PROCEDŪRAS IEROBEŽOJUMI**).

Testa procedūra

Uznesiet paraugu uz barotnes pēc iespējas drīzāk pēc saņemšanas laboratorijā. Plate ar uzsējumu primāri tiek izmantota tīrkultūras izolēšanai no paraugiem, kas satur jauktu mikrofluoru. Lai veiktu uzsējumus uz biplates ar paraugiem no vates tamponiem, vispirms pārvelciet ar tamponu pāri nelielam barotnes Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood laukumam un pēc tam pāri nelielam barotnes MacConkey II Agar laukumam. Katrai barotnei izmantojot jaunu cilpu, veiciet uznešanu no uzsētajiem laukumiem. Inkubējiet apkārtējā gaisa vidē no 24 līdz 48 stundām 35–37 °C temperatūrā. Nav ieteicams šo izstrādājumu inkubēt ar oglekļa dioksīdu bagātinātā aerobā atmosfērā, jo iegūtie rezultāti uz barotnes MacConkey Agar var atšķirties no tiem, kas iegūti inkubējot apkārtējā gaisa vidē.¹¹

Tā kā eksistē grampozitīvi un gramnegatīvi organismi, kuru augšana tiek traucēta uz abām šīs biplates barotnēm vai arī tie neaug apkārtējā gaisa vidē, ir ieteicams izmeklējumos izmantot arī neselektīvu asins agara plati, piemēram, **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, kas tiek inkubēta 24 līdz 48 stundas 35–37 °C temperatūrā aerobā, ar oglekļa dioksīdu bagātinātā atmosfērā.

Rezultāti

Tipiski augšanas rezultāti uz barotnēm **BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** ir šādi:

Organismi	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Sārtas līdz rožaini sārtas (tās var ieskait žults precipitāta zona)	(Daļēja līdz) pilnīga inhibēšana
<i>Enterobacter</i>	Glotainas, sārtā krāsā	(Daļēja līdz) pilnīga inhibēšana
<i>Klebsiella</i>	Glotainas, sārtā krāsā	(Daļēja līdz) pilnīga inhibēšana
<i>Proteus</i>	Bezkrāsainas, izplatība ierobežota	(Daļēja līdz) pilnīga inhibēšana; izplatība ierobežota
<i>Salmonella</i>	Bezkrāsainas	Pilnīga inhibēšana
<i>Shigella</i>	Bezkrāsainas	Pilnīga inhibēšana
<i>Pseudomonas</i>	Neregulāras formas, no bezkrāsainas līdz sātai krāsai	(Daļēja līdz) pilnīga inhibēšana
Stafilokoki	Daļēja līdz pilnīga inhibēšana	Uzaugums; kolonijas mazas līdz vidējas, no baltas līdz dzeltenīgai krāsai, ar beta hemolīzi vai bez tās
Streptokoki	Pilnīga inhibēšana	Uzaugums; kolonijas sīkas līdz vidējas, ar beta vai alfa hemolīzi vai bez
Enterokoki	Daļēja līdz pilnīga inhibēšana	Uzaugums; kolonijas sīkas līdz vidējas; var būt pelēcīgas robežas, parasti nehemolītiskas

Uz šīs barotnes var augt arī citas gramnegatīvas vai grampozitīvas baktērijas, kas nav minētas iepriekšējā sarakstā. Lai iegūtu sīkāku informāciju un informāciju par uzauguma interpretāciju, skatiet atsaucē.^{4,10,12}

VEIKTSPĒJAS RAKSTUROJUMS UN PROCEDŪRAS IEROBEŽOJUMI

BD MacConkey II Agar ir viena no standarta barotnēm, kas tiek izmantota klīnisku paraugu un dažādu neklīniskas izcelsmes materiālu uzsēšanai. Uz šīs barotnes aug visi mikroorganismi no *Enterobacteriaceae* ģints un dažādas gramnegatīvas nūjiņas, piemēram, *Pseudomonas* un saistītas ģintis. Nefermentējošie mikroorganismi vai citas gramnegatīvās nūjiņas, kas ir jūtīgas pret selektīvajām sastāvdaļām, uz šīs barotnes neaug. Pirms barotnes lietošanas specifisku mikroorganismu noteikšanai skatiet attiecīgās atsauču sadaļas.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood ir uzlabota selektīvā barotne daudzu aerobu grampozitīvu mikroorganismu, piemēram, streptokoku, stafilokoku, *Listeria* ģints un citu mikroorganismu, izolēšanai un audzēšanai no klīniskiem paraugiem. Ar barotnes palīdzību var ātrāk noteikt stafilokokus, enterokokus un streptokokus, kā arī iegūt labāku gramnegatīvo baktēriju augšanas ierobežošanu kā uz barotnes Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

Iekšējās veiktspējas novērtējumos tika pārbaudīta 38 grampozitīvo baktēriju celmu (klīniski izolāti un kolekcijas celmi), kas pieder 1. tabulā minētajām ģintīm, un vairāku gramnegatīvo baktēriju augšana uz barotnēm **BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. Barotne **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)** tika izmantota kā augšanas atsauces barotne. Plates tika inkubētas aerobā atmosfērā 18 līdz 24 stundas 35–37 °C temperatūrā.

Pret hinolonu izturīgas *Proteus* ģintis tika pilnībā ierobežotas uz Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood barotnes, taču izveidoja izteiktu uzaugumu uz MacConkey II Agar un Columbia Agar barotnēm.

Uz Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood barotnes koloniju izmēri un hemolīzes zonas bija salīdzināmas ar tām, kas izveidojās uz Columbia Agar barotnes. Visi grampozitīvie celmi, izņemot *Corynebacterium diphtheriae*, izveidoja uzaugumu uz CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood barotnes, 18-20 stundas inkubējot aerobā vidē, taču pilnībā tika ierobežota to augšana uz MacConkey II Agar barotnes. *C. diphtheriae* nepieciešama 42 stundu inkubācija. Tika pārbaudīti arī stafilokoki, kuriem nepieciešama 2 dienu inkubācija, izmantojot parasto Columbia CNA Agar barotni.

1. tabula. Grampozitīvo mikroorganismu ģintis, kuras tika pārbaudītas un iegūtas, izmantojot BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood barotni (inkubācija aerobā vidē)

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

* nepieciešama 48 stundu inkubācija, lai noteiktu uz **CNA-II** un **CNA**.

Ierobežojumi: uz šīs barotnes var augt gramnegatīvās baktērijas, kas ir rezistentas pret selektīvajām sastāvdaļām.

Candida un citu sēnīšu ģinšu augšana uz šīs barotnes nav ierobežota.

Lai gan, piemēram, *Bacillus* ģints baktērijas ir grampozitīvas, aerobu, sporas veidojošu mikroorganismu augšana uz Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood barotnes var būt ierobežota.

Korinobaktērijām nepieciešamais inkubācijas laiks uz Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood barotnes ir no 42 līdz 48 stundām.

Noteiktiem stafilokokiem, piemēram, *Streptococcus intermedius* un *Streptococcus milleri*, augšanai nepieciešama ar CO₂ bagātināta vai anaeroba atmosfēra.

Columbia Agar barotnes bāzei ir relatīvi augsts ogļhidrātu saturs. Līdz ar to beta hemolītiskie streptokoki var radīt zaļganas krāsas hemolīzes reakciju, kuru var sajaukt ar alfa hemolīzi uz Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood barotnes.

Lai gan uz barotnēm **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** augs plašs spektrs gramnegatīvo un grampozitīvo baktēriju, ir ieteicams primārai visu patogēnu, kas varētu atrasties paraugā, izolācijai izmantot neselektīvu barotni.¹⁰ **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** barotne bieži šim mērķim tiek izmantota kā neselektīva barotne pirmajiem uzsējumiem. Izvēlīgu mikroorganismu, piemēram, *Neisseria* vai *Haemophilus*, izolācijai uzsējumi jāveic uz šokolādes agara plates, piemēram, **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalEX)**, ja tiek paredzēta šo mikroorganismu klātbūtne.

Ir ziņojumi, ka uz MacConkey Agar barotnes tiek ierobežota dažādu *Enterobacteriaceae* ģints un *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganismu augšana, ja barotne tiek inkubēta ar CO₂ bagātinātā atmosfērā.¹¹ Tāpēc **BD MacConkey II Agar/ Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** barotni nedrīkst inkubēt ar CO₂ bagātinātā atmosfērā.

Dažās platēs ar izteiktu stafilokoku uzaugumu uz Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood barotnes un bez uzauguma uz MacConkey II Agar barotnes tika konstatēti MacConkey II Agar barotnes krāsas zudums. Tam nav negatīvas ietekmes uz gramnegatīvo baktēriju iegūšanu un tipisko koloniju krāsojumu MacConkey II Agar barotnē.

Lai gan noteiktus diagnostikas testus var veikt tieši uz šīm barotnēm, pilnīgai izolātu identifikācijai ir nepieciešams veikt bioķīmiskas, un, ja norādīts, imunoloģiskas pārbaudes, izmantojot tīrkultūras.

ATSAUCES

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.

IEPAKOJUMS/PIEEJAMĪBA

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

Kat. Nr.

Apraksts

REF 257574

Lietošanai gatava plates barotne, 20 vienības

REF 257584

Lietošanai gatava plates barotne, 120 vienības

SĪKĀKA INFORMĀCIJA

Lai iegūtu sīkāku informāciju, sazinieties ar vietējo BD pārstāvi.



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 uzņēmuma American Type Culture Collection preču zīme

BD, BD logo un Stacker ir uzņēmuma Becton, Dickinson and Company preču zīmes

© 2015 Becton, Dickinson and Company