



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

НАЗНАЧЕНИЕ

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate) (агар Макконки II / улучшенный колумбийский агар II с CNA и 5 % овечьей крови [двойная чашка]) представляет собой улучшенную среду, которая используется для селективной изоляции грамотрицательных и грамположительных бактерий из клинических образцов.

ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод.

Агар Макконки — это одна из первых рецептов (опубликованных Макконки в 1900 году) для изоляции, культивации и идентификации *Enterobacteriaceae* и некоторых неферментирующих микроорганизмов. В дальнейшем данная среда была несколько раз модифицирована^{1,2}.

Рецептура агара Макконки II была разработана в 1987 году для улучшения ингибирования роста *Proteus* с целью достижения более четкой дифференциации микроорганизмов, ферментирующих и неферментирующих лактозу, и стимулирования роста кишечных бактерий. В агаре Макконки II источником питательных веществ являются пептоны. В среду добавлен кристаллический фиолетовый для ингибирования роста грамположительных бактерий, особенно энтерококков и стафилококков. Дифференциация кишечных микроорганизмов достигается при помощи комбинации лактозы и нейтрального красного индикатора pH. В зависимости от способности изолята ферментировать углеводы образуются бесцветные колонии или колонии от розового до красного цвета³⁻⁵.

В 1966 г. Эллнер (Ellner) и др. сообщили о разработке рецептуры кровяного агара, который получил название колумбийского агара⁶. Эта среда, обеспечивающая более крупные колонии и более интенсивный рост по сравнению с сопоставимыми основами кровяного агара, используется для сред, содержащих кровь, и для селективных рецептов. Эллнер и др. обнаружили, что среда, содержащая 10 мг колистина и 15 мг налидиксовой кислоты на литр основы колумбийского агара, обогащенного 5 % овечьей крови, поддерживает рост стафилококков, гемолитических стрептококков и энтерококков, ингибируя при этом рост видов *Proteus*, *Klebsiella* и *Pseudomonas*⁶. С годами устойчивость бактерий к противомикробным препаратам возросла. Это особенно актуально для грамотрицательных палочек, рост которых на колумбийском агаре с CNA и 5 % овечьей крови должен ингибироваться, но часто наблюдается. В Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (улучшенный колумбийский агар II с CNA и 5 % овечьей крови) добавлено небольшое количество азтреонама, обеспечивающего высокую селективность среды, а концентрация налидиксовой кислоты сокращена до 5,5 мг/л с целью увеличения выделения грамположительных кокков, особенно стафилококков, из клинических образцов. Концентрация колистина осталась прежней. Азтреонам — это монобактам, который действует только против большинства грамотрицательных бактерий, но никак не влияет на грамположительные микроорганизмы⁷⁻⁹. Овечья кровь позволяет обнаруживать гемолитические реакции, которые особенно важны для предположительной диагностики стрептококков¹⁰.

Основным преимуществом Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (улучшенный колумбийский агар II с CNA и 5 % овечьей крови) по сравнению с обычным колумбийским агаром с CNA и 5 % овечьей крови является более активный рост стафилококков, которые чаще обнаруживаются через 18–24 часа инкубации, а также более эффективное ингибирование устойчивых грамотрицательных бактерий, особенно *Proteus*.

Комбинация двух сред в двойной чашке (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) обеспечивает селективную изоляцию грамотрицательных и грамположительных бактерий в клинических образцах.

РЕАГЕНТЫ

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

Рецептуры* на литр очищенной воды

MacConkey II Agar (агар)		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (улучшенный колумбийский агар II с CNA и 5 % овечьей крови)	
Панкреатический гидролизат желатина	17,0 г	Пептоны	20,0 г
Панкреатический гидролизат казеина	1,5	Дрожжевой экстракт	3,5
Пептический гидролизат животной ткани	1,5	Триптический гидролизат бычьего сердца	3,0
Лактоза	10,0	Кукурузный крахмал	1,0
Соли желчных кислот	1,5	Натрия хлорид	5,0
Натрия хлорид	5,0	Колистин	10,0 мг
Нейтральный красный	0,03	Налидиксовая кислота	5,5
Кристаллический фиолетовый	0,001	Азтреонам	3,0
Агар	13,5	Овечья кровь, дефибринированная	5 %
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

* При необходимости изменяется и (или) дополняется для соответствия критериям эффективности.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

IVD . Только для профессионального применения. ②

Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания, растрескивания или других признаков порчи продукта.

Ознакомьтесь с документом **ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**, в котором приведено описание асептических методик работы, биологических опасностей и порядка утилизации использованного продукта.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

После получения храните чашки в темноте при температуре от 2 до 8 °C в оригинальной упаковке до начала использования. Избегайте замораживания и перегрева. Чашки могут быть засеяны до даты истечения срока годности (см. этикетку на упаковке) и инкубированы в течение рекомендованного времени инкубации.

Чашки из открытых стопок по 10 чашек могут использоваться в течение одной недели при условии хранения с соблюдением чистоты при температуре от 2 до 8 °C.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Засейте репрезентативные образцы следующими штаммами (подробные сведения см. в документе **ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**). Инкубируйте чашки, желательно в перевернутом положении, при 35–37 °C в аэробных условиях в течение 18–24 часов.

Штаммы	MacConkey II Agar (агар)	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (улучшенный колумбийский агар II с CNA и 5 % овечьей крови)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Рост от хорошего до превосходного; колонии от розового до красного цвета с желчным осадком	Полное ингибирование

<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Рост от хорошего до превосходного, колонии от бежевого до коричневатого цвета, роение подавлено	Полное ингибирование
Штаммы	MacConkey II Agar (арар)	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (улучшенный колумбийский агар II с CNA и 5 % овечьей крови)
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Ингибирование (от частичного до полного)	Рост от хорошего до превосходного; небольшие колонии серого цвета
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Полное ингибирование	Колонии от белого до желтоватого цвета с бета-гемолизом
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Тестирование не проводилось	Небольшие колонии сероватого цвета; бета-гемолиз
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Тестирование не проводилось	Небольшие колонии от зеленого до серого цвета; альфа-гемолиз
Незасеянная среда	Светло-розовая с легким молочным отливом	Красная непрозрачная

МЕТОДИКА

Предоставляемые материалы

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (двойные чашки **Stacker** 90 мм). Не содержит микроорганизмов.

Непредоставляемые материалы

Дополнительная питательная среда, реагенты и лабораторное оборудование по мере необходимости.

Типы образцов

Среда, содержащаяся в двойной чашке, используется для селективной изоляции многих грамотрицательных и грамположительных бактерий из всех типов клинических образцов (см. также **РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ**).

Методика тестирования

Выполните посев образца как можно скорее после поступления в лабораторию. Чашка для посева используется, главным образом, для отделения чистых культур от образцов, содержащих смешанную флору.

Для посева на эту двойную чашку образца с тампона сначала проведите тампоном над небольшим участком с улучшенным колумбийским агаром II с CNA и 5 % овечьей крови, а затем над небольшим участком с агаром Макконки II. Используя новую петлю для каждой среды, нанесите штрихи для изоляции с засеянных участков. Инкубируйте при температуре 35–37 °C в течение 24–48 часов. Не рекомендуется инкубировать этот продукт в аэробной атмосфере, обогащенной диоксидом углерода, так как результаты для агара Макконки могут отличаться от результатов, полученных при инкубации в обычном воздухе¹¹.

Поскольку некоторые грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы ингибируются на обеих средах данной двойной чашки или не растут в обычном воздухе, рекомендуется добавить чашку с неселективным кровяным агаром, например колумбийским агаром с 5 % овечьей крови **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, и инкубировать ее в течение 24–48 часов при температуре 35–37 °C в аэробной атмосфере, обогащенной диоксидом углерода.

Результаты

Типичные результаты роста на двойной чашке **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**:

Микроорганизм	MacConkey II Agar (агар)	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (улучшенный колумбийский агар II с CNA и 5 % овечьей крови)
<i>E. coli</i>	От розового до розово-красного цвета (могут быть окружены зоной желчного осадка)	Ингибирование (от частичного до полного)
<i>Enterobacter</i>	Слизеподобные, розового цвета	Ингибирование (от частичного до полного)
<i>Klebsiella</i>	Слизеподобные, розового цвета	Ингибирование (от частичного до полного)
<i>Proteus</i>	Бесцветные, роение подавлено	Ингибирование от частичного до полного; роение подавлено
<i>Salmonella</i>	Бесцветные	Полное ингибирование
<i>Shigella</i>	Бесцветные	Полное ингибирование
<i>Pseudomonas</i>	Неравномерные; от бесцветного до розового цвета	Ингибирование (от частичного до полного)
Стафилококки	Ингибирование от частичного до полного	Рост; от белого до желтого цвета; колонии от небольшого до среднего размера с бета-гемолизом или без него
Стрептококки	Полное ингибирование	Рост; колонии от маленького до среднего размера с бета- либо альфа-гемолизом или без него
Энтерококки	Ингибирование от частичного до полного	Рост; колонии от маленького до среднего размера, могут быть сероватые границы, обычно без гемолиза

На среде также возможен рост других грамотрицательных и грамположительных бактерий, не указанных в списке. Подробную информацию о росте колоний и его интерпретации см. в справочных материалах^{4,10,12}.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Среда **BD MacConkey II Agar** является одной из стандартных сред, используемых для первичного посева клинических образцов и ряда неклинических материалов. На этой среде растут все микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae* и многие другие грамотрицательные палочки, такие как *Pseudomonas* и родственные виды. На данной среде не растут неферментирующие бактерии или другие грамотрицательные палочки, чувствительные к селективным ингредиентам. Перед использованием среды для изоляции конкретных микроорганизмов обратитесь к соответствующим главам справочных материалов^{4,10,12}.

Среда **BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood** (улучшенный колумбийский агар II с CNA и 5 % овечьей крови) является улучшенной селективной средой для изоляции многих аэробных грамположительных микроорганизмов, например стрептококков, стафилококков, *Listeria* и др., из клинических образцов и их культивирования. Данная среда позволяет быстрее обнаруживать стафилококки, энтерококки и стрептококки, а также более эффективно ингибировать грамотрицательные бактерии, чем обычный колумбийский агар с CNA и 5 % овечьей крови.

В ходе внутренней оценки качества диагностики 38 штаммов (клинические изоляты и коллекционные штаммы) грамположительных бактерий, виды которых приведены в Табл. 1, и многие грамотрицательные бактерии были протестированы на рост в среде **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** (агар Макконки II / улучшенный колумбийский агар II с CNA и 5 % овечьей крови [двойная чашка]). В качестве эталонной питательной среды использовался колумбийский агар с 5 % овечьей крови **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)**. Чашки инкубировались в аэробной атмосфере в течение 18–24 часов при температуре 35–37 °C. Штаммы *Proteus*, устойчивые к хинолону, были полностью ингибированы на улучшенном колумбийском агаре II с CNA и 5 % овечьей крови, но показали хороший рост на агаре Макконки II и колумбийском агаре.

Размер колоний и гемолитические зоны на улучшенном колумбийском агаре II с CNA и 5 % овечьей крови были сравнимы с аналогичными показателями на колумбийском агаре. Все грамположительные штаммы, за исключением *Corynebacterium diphtheriae*, показали рост на улучшенном колумбийском агаре II с CNA и 5 % овечьей крови в течение 18–20 часов в аэробной атмосфере и были полностью ингибированы на агаре Макконки II. *C. diphtheriae* потребовалось 42 часа инкубации. Тестирование включало стафилококки, которым потребовалось 2 дня инкубации на обычном колумбийском агаре с CNA.

Табл. 1. Грамположительные виды, протестированные и выделенные на улучшенном колумбийском агаре II с CNA и 5 % овечьей крови **BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood** (аэробная инкубация)

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

*Для обнаружения на **CNA-II** и **CNA** потребовалась инкубация в течение 48 часов.

Ограничения. На данной среде возможен рост грамотрицательных бактерий, устойчивых к селективным ингредиентам.

Рост *Candida* и других грибов на данной среде не ингибируется.

На улучшенном колумбийском агаре II с CNA и 5 % овечьей крови возможно ингибирование роста аэробных спорообразующих микроорганизмов, например *Bacillus*, хотя эти микроорганизмы относятся к грамположительным бактериям.

Инкубация коринебактерий на улучшенном колумбийском агаре II с CNA и 5 % овечьей крови может занять 42–48 часов.

Для роста некоторых стрептококков, например *Streptococcus intermedius* и *Streptococcus milleri*, может потребоваться обогащенная CO₂ или анаэробная атмосфера.

Основа колумбийского агара характеризуется относительно высоким содержанием углеводов. Поэтому на улучшенном колумбийском агаре II с CNA и 5 % овечьей крови возможна зеленоватая гемолитическая реакция бета-гемолитических стрептококков, которая может быть ошибочно принята за альфа-гемолиз.

Несмотря на то, что множество грамотрицательных и грамположительных бактерий будут расти на одной из сред, содержащихся в двойных чашках **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**, рекомендуется добавить неселективную среду для первичной изоляции всех патогенов, которые могут присутствовать в образцах¹⁰. Колумбийский агар с 5 % овечьей крови **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** — неселективная среда для первичного посева, которая часто используется в этих целях. Для изоляции микроорганизмов, требовательных к питательной среде, например *Neisseria* или *Haemophilus*, необходимо также добавить чашку с шоколадным агаром, например **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalX)**, если предполагается наличие этих микроорганизмов.

Имеются данные, что некоторые виды *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonas aeruginosa* ингибируются на агаре Макконки при инкубации в обогащенной CO₂ атмосфере¹¹. Поэтому двойные чашки **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** не следует инкубировать в обогащенной CO₂ атмосфере.

На некоторых чашках с активным ростом стафилококков на улучшенном колумбийском агаре II с CNA и 5 % овечьей крови и отсутствием роста на агаре Макконки II наблюдалось обесцвечивание агара Макконки II. Это не оказывает отрицательного воздействия на восстановление и типичное окрашивание колоний грамотрицательных бактерий на агаре Макконки II.

Несмотря на то, что определенные диагностические тесты можно выполнять непосредственно на этой среде, для полной идентификации изолятов необходимо провести биохимическое и, если показано, иммунологическое тестирование с использованием чистых культур.

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

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.

УПАКОВКА/НАЛИЧИЕ

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

Кат. №	Описание
№ 257574	Готовая к использованию среда в чашках; 20 чашек
№ 257584	Готовая к использованию среда в чашках; 120 чашек

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

За дополнительной информацией обращайтесь к местному представителю компании 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 является товарным знаком Американской коллекции типовых культур

BD, логотип BD и Stacker являются товарными знаками Becton, Dickinson and Company

© Becton, Dickinson and Company, 2015 ©.