



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

POUŽITIE

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

(pôda BD MacConkey II Agar/vylepšená pôda Columbia CNA Agar II s 5 % ovčej krvi na dvojitej miske) je vylepšená pôda používaná na selektívnu izoláciu gramnegatívnych a grampozitívnych baktérií z klinických vzoriek.

PRINCÍP A VYSVETLENIE METÓDY

Mikrobiologická metóda.

MacConkey Agar je jedna z prvých zmesí (v roku 1900 jej opis uverejnil MacConkey) používaných na izoláciu, kultiváciu a identifikáciu baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae* a niektorých nefermentujúcich baktérií. Neskôr sa zloženie tejto pôdy viackrát upravovalo.^{1,2} Zmes MacConkey II Agar bola navrhnutá v roku 1987 na účely zlepšenia inhibície plazenia baktérií rodu *Proteus*, aby sa dosiahla spoľahlivejšia diferenciácia baktérií fermentujúcich a nefermentujúcich laktózu a zvýšený rast črevných baktérií. Živiny v pôde MacConkey II Agar poskytujú peptóny. Súčasťou balenia je kryštálová violet, ktorá inhibuje grampozitívne baktérie, najmä enterokoky a stafylokoky. Diferenciácia črevných mikroorganizmov sa dosahuje kombináciou laktózy a indikátora pH s neutrálnou červeňou. Výsledkom sú bezfarebné alebo ružové až červené kolónie v závislosti od schopnosti izolátu fermentovať tento uhl'ovodík.³⁻⁵

Ellner a kol. v roku 1966 oznámili, že vyvinuli krvnú agarovú zmes, ktorá sa označuje ako Columbia Agar.⁶ Na tejto pôde sa dosahujú väčšie kolónie a bujnnejší rast ako na porovnateľných krvných agarových základoch a používa sa pre pôdy s obsahom krvi a pre selektívne zmesi. Ellner a kol. zistili, že pôda obsahujúca 10 mg kolistínu a 15 mg kyseliny nalidixovej na liter v agarovom základe Columbia obohatená o 5 % ovčej krvi podporuje rast stafylokokov, hemolytických streptokokov a enterokokov a zároveň inhibuje rast baktérií rodu *Proteus*, *Klebsiella* a *Pseudomonas*.⁶ V priebehu rokov sa zvýšila rezistencia baktérií voči antimikrobiálnym látkam. Platí to najmä pre gramnegatívne bacily, ktoré by pôda Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood mala inhibovať, ale často na nej, naopak, rastú. Do pôdy Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood sa pridalo malé množstvo aztreonamu na zachovanie dobrej selektivity tejto pôdy a koncentrácia kyseliny nalidixovej sa znížila na 5,5 mg/L, aby sa zvýšilo množenie grampozitívnych kokov, najmä stafylokokov. Koncentrácia kolistínu zostala nezmenená. Aztreonam je monobaktam, ktorý pôsobí len proti väčšine gramnegatívnych baktérií, kým na grampozitívne organizmy neúčinkuje.⁷⁻⁹ Ovčia krv umožňuje detegovať hemolytické reakcie, ktoré sú obzvlášť dôležité pri predbežnej diagnostike streptokokov.¹⁰

Hlavnou výhodou pôdy Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood oproti pôde Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood je zlepšený rast stafylokokov, ktoré sa častejšie detegujú po 18 až 24 hodinách inkubácie, a lepšia inhibícia rezistentných gramnegatívnych baktérií, najmä rodu *Proteus*.

Kombinácia týchto dvoch pôd na dvojitej miske (**BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) sa používa na selektívnu izoláciu gramnegatívnych a grampozitívnych baktérií z klinických vzoriek.

ZLOŽENIE

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

Zloženie* na jeden liter purifikovanej vody

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Pankreatický želatínový hydrolyzát	17,0 g	Peptóny	20,0 g
Pankreatický kazeínový hydrolyzát	1,5	Kvasničný extrakt	3,5
Peptický hydrolyzát zo živočíšneho tkaniva	1,5	Tryptický hydrolyzát z hovädzieho srdca	3,0
Laktóza	10,0	Kukuričný škrob	1,0
Soli kyseliny žlčovej	1,5	Chlorid sodný	5,0
Chlorid sodný	5,0	Kolistín	10,0 mg
Neutrálna červeň	0,03	Kyselina nalidixová	5,5
Kryštálová violet	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Ovčia krv defibrinovaná	5 %
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

* Upravené alebo doplnené podľa potreby tak, aby boli splnené kritériá účinnosti.

UPOZORNENIA

IVD . Len na profesionálne použitie. Ⓢ

Misky nepoužívajte, ak sú na nich viditeľné známky mikrobiálnej kontaminácie, zmeny farby, vysušenia, prasknutia alebo iné známky poškodenia.

Informácie o aseptických postupoch pri manipulácii, o biologických rizikách a likvidácii použitého produktu nájdete v dokumente **VŠEOBECNÉ POKYNY NA POUŽÍVANIE**.

USKLADNENIE A ŽIVOTNOSŤ

Dodané misky s pôdou skladujte na tmavom mieste pri teplote 2 až 8 °C v pôvodnom obale. Z obalu ich vyberte až bezprostredne pred použitím. Nezmrazujte ani nevystavujte nadmernej teplote. Pôda v miskách sa môže očkovať až do dátumu použiteľnosti (uvedeného na obale) a inkubovať podľa odporúčania.

Misky z otvorených balení po 10 kusov sa môžu používať jeden týždeň, ak sú uskladnené na čistom mieste pri teplote 2 až 8 °C.

KONTROLA KVALITY UŽÍVATEĽOM

Reprezentatívne vzorky naočkujte nasledujúcimi kmeňmi (podrobnosti nájdete v dokumente **VŠEOBECNÉ POKYNY NA POUŽÍVANIE**). Misky inkubujte podľa možnosti aeróbne v obrátenej polohe pri 35 až 37 °C počas 18 – 24 hodín.

Kmene	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Rast dobrý až výborný, ružové až červené kolónie so zrazeninami žlče	Úplná inhibícia
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Rast dobrý až výborný, béžové až hnedasté kolónie, plazenie inhibované	Úplná inhibícia
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	(Čiastočná až) úplná inhibícia	Rast dobrý až výborný, malé sivé kolónie
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Úplná inhibícia	Biele až žltasté kolónie s beta hemolýzou
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Netestované	Malé sivasté kolónie, beta hemolýza
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Netestované	Malé zelené až sivé kolónie, alfa hemolýza
Nenaočkované	Svetloružové, jemne opaleskujúce	Červené, nepriehľadné

POSTUP

Dodávaný materiál

BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (90-mm dvojité misky typu **Stacker**). Mikrobiologicky kontrolované.

Nedodávaný materiál

Pomocné kultivačné pôdy, činidlá a potrebné laboratórne vybavenie.

Typy vzoriek

Pôdy na tejto dvojitej miske sa používajú na selektívnu izoláciu mnohých gramnegatívnych a grampozitívnych baktérií zo všetkých typov klinických vzoriek (pozri aj časť **VLASTNOSTI A OBMEDZENIA POSTUPU**).

Postup testu

Vzorku naočkujte čo najskôr po doručení do laboratória. Naočkovaná pôda sa používa predovšetkým na izoláciu čistých kultúr zo vzoriek obsahujúcich zmiešanú flóru.

Ak chcete naočkovať pôdu v dvojitej miske vzorkami z tampónu, najprv obtrite tampón o malú časť povrchu pôdy Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood a potom o malú časť pôdy MacConkey II Agar. Pomocou novej slučky pre každú pôdu roztrite z naočkovaných oblastí kvôli izolácii. Inkubujte v okolitej atmosfére 24 až 48 hodín pri teplote 35 – 37 °C. Neodporúča sa inkubovať tento produkt v aeróbnej atmosfére obohatenej o oxid uhličitý, pretože výsledky na pôde MacConkey Agar sa môžu líšiť od výsledkov získaných inkubáciou v okolitej atmosfére.¹¹

Keďže existujú grampozitívne a gramnegatívne organizmy, ktoré sú inhibované na oboch pôdach na tejto dvojitej miske alebo ktoré nerastú v okolitej atmosfére, odporúča sa pridať misku s neselektívnym krvným agarom, napr. pôdou **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, ktorá sa inkubuje 24 až 48 hodín pri teplote 35 – 37 °C v aeróbnej atmosfére obohatenej o oxid uhličitý.

Výsledky

Typické výsledky rastu na pôdach **BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**:

Organizmy	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Ružové až ružovočervené (môžu byť obklopené zónou zrazenej žlče)	(Čiastočná až) úplná inhibícia
<i>Enterobacter</i>	Mukoidné, ružové	(Čiastočná až) úplná inhibícia
<i>Klebsiella</i>	Mukoidné, ružové	(Čiastočná až) úplná inhibícia
<i>Proteus</i>	Bezfarebné, plazenie inhibované	(Čiastočná až) úplná inhibícia, plazenie inhibované
<i>Salmonella</i>	Bezfarebné	Úplná inhibícia
<i>Shigella</i>	Bezfarebné	Úplná inhibícia
<i>Pseudomonas</i>	Nepravidelné, bezfarebné až ružové	(Čiastočná až) úplná inhibícia
Stafylokoky	Čiastočná až úplná inhibícia	Rast, biele až žlté, malé až stredné kolónie, s beta hemolýzou alebo bez nej
Streptokoky	Úplná inhibícia	Rast, drobné až stredné kolónie s beta alebo alfa hemolýzou alebo bez nej
Enterokoky	Čiastočná až úplná inhibícia	Rast, drobné až stredné kolónie, môžu mať sivasté okraje, zvyčajne nehemolytické

Na týchto pôdach môžu rásť aj iné gramnegatívne a grampozitívne baktérie, ktoré nie sú uvedené vyššie. V použitej literatúre nájdete podrobnosti a interpretáciu rastu.^{4,10,12}

VLASTNOSTI A OBMEDZENIA POSTUPU

BD MacConkey II Agar je jedna zo štandardných pôd používaných na primárnu kultiváciu klinických vzoriek a mnohých ďalších neklinických materiálov. Na tejto pôde rastú všetky organizmy čeľade *Enterobacteriaceae* a množstvo iných gramnegatívnych bacilov, napr. *Pseudomonas* a príbuzné rody. Na tejto pôde nerastú nefermentujúce baktérie ani iné gramnegatívne bacily citlivé na jej selektívne zložky. Pred použitím tejto pôdy pre konkrétne organizmy si prečítajte príslušné kapitoly z použitej literatúry.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood je vylepšená selektívna pôda na izoláciu a kultiváciu mnohých aeróbne rastúcich grampozitívnych mikroorganizmov, napr. streptokokov, stafylokokov, rodu *Listeria* a iných, z klinických vzoriek. Táto pôda umožňuje rýchlejšiu detekciu stafylokokov, enterokokov a streptokokov a lepšiu inhibíciu gramnegatívnych baktérií ako pôda BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

V interných hodnoteniach účinnosti sa 38 kmeňov (klinických izolátov a odobratých kmeňov) grampozitívnych baktérií druhov uvedených v tabuľke 1 a množstvo gramnegatívnych baktérií testovalo na rast na pôdach **BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. Ako rastová referenčná pôda sa použila pôda **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (= COL). Misky sa inkubovali v aeróbnej atmosfére 18 až 24 hodín pri teplote 35 – 37 °C.

Kmene rodu *Proteus* rezistentné voči chinolónom boli úplne inhibované na pôde Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, ale zaznamenali intenzívny rast na pôdach MacConkey II Agar a Columbia Agar.

Veľkosti kolónií a hemolytické zóny na pôde Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood boli porovnateľné s pôdou Columbia Agar. Všetky grampozitívne kmene okrem *Corynebacterium diphtheriae* vykazovali rast na pôde Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood pri aeróbnej inkubácii do 18 – 20 hodín a boli úplne inhibované na pôde MacConkey II Agar. Organizmy *C. diphtheriae* potrebovali 42 hodín inkubácie. Testovanie zahŕňalo aj stafylokoky, ktoré potrebovali 2 dni inkubácie na bežnej pôde Columbia CNA Agar.

Tabuľka 1: Grampozitívne druhy testované a izolované na pôde BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (aeróbna inkubácia)

<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>	

* Na detekciu na pôdach CNA-II a CNA bola potrebná 48-hodinová inkubácia.

Obmedzenia: Na tejto pôde môžu rásť gramnegatívne baktérie vykazujúce rezistenciu voči selektívnym zložkám.

Baktérie rodu *Candida* a iné huby nie sú na tejto pôde inhibované.

Aj keď sú aeróbne organizmy tvoriace spóry, napríklad rod *Bacillus*, grampozitívne baktérie, môžu byť na pôde Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood inhibované.

Korynebaktérie môžu na pôde Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood potrebovať 42 až 48 hodín inkubácie.

Niektoré streptokoky, napr. *Streptococcus intermedius* a *Streptococcus milleri*, potrebujú na rast anaeróbne prostredie obohatené o oxid uhličitý.

Základ Columbia Agar má pomerne vysoký obsah uhlíkovodíkov. Beta hemolytické streptokoky preto môžu na pôde Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood vytvárať zelenkavú hemolytickú reakciu, ktorú si možno zmýliť s alfa hemolýzou.

Hoci na jednej z pôd **BD MacConkey II Agar/ Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** bude rásť veľké množstvo rôznych gramnegatívnych a grampozitívnych baktérií, odporúča sa pridať neselektívnu pôdu na primárnu izoláciu všetkých patogénov, ktoré môžu byť prítomné vo vzorke.¹⁰ Pôda **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** je často používané neselektívne primárne kultivačné médium, ktoré možno použiť na tento účel. Ak sú očakávané náročné organizmy, ako sú *Neisseria* alebo *Haemophilus*, na ich izoláciu by sa vzorkou mal naočkovať aj čokoládový agar, napr. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalEx)**.

Bolo zaznamenané, že niektoré baktérie čeľade *Enterobacteriaceae* a *Pseudomonas aeruginosa* sú na pôde MacConkey Agar inhibované, keď inkubácia prebieha v prostredí obohatenom o CO₂.¹¹ Pôdy **BD MacConkey II Agar/ Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** by sa preto nemali inkubovať v prostredí obohatenom o CO₂.

Na niektorých miskách so silným rastom stafylokokov na pôde Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood a žiadnym rastom na pôde MacConkey II Agar bolo pozorované blednutie farby pôdy MacConkey II Agar. Nemá to žiadny negatívny vplyv na izoláciu a typické sfarbenie kolónií gramnegatívnych baktérií na pôde MacConkey II Agar.

Hoci niektoré diagnostické testy sa dajú vykonať priamo na týchto pôdach, na úplnú identifikáciu izolátov sú nevyhnutné biochemické a (ak sú indikované) aj imunologické testy s použitím čistých kultúr.

LITERATÚRA

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.

BALENIE/DOSTUPNOSŤ

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

Kat. č. Popis

REF 257574	Pôda v Petriho miskách pripravená na použitie, 20 ks
REF 257584	Pôda v Petriho miskách pripravená na použitie, 120 ks

ĎALŠIE INFORMÁCIE

Ďalšie informácie získate od miestneho zástupcu spoločnosti 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 spoločnosti American Type Culture Collection

BD, logo BD a Stacker sú ochranné známky spoločnosti Becton, Dickinson and Company.

© 2015 Becton, Dickinson and Company