



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

KULLANIM AMACI

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate) (%5 Koyun Kanı ile iyileştirilmiş Columbia CNA Agarı (Çift Plak)), klinik örneklerden Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin seçici izolasyonu için kullanılan iyileştirilmiş bir besiyeridir.

PROSEDÜR İLKELERİ VE AÇIKLAMASI

Mikrobiyolojik yöntem.

MacConkey Agar, *Enterobacteriaceae* ve bazı fermente etmeyenlerin izolasyonu, kültivasyonu ve tanımlanmasına yönelik en eski formülasyonlardan (MacConkey tarafından 1900'da yayınlanmıştır) biridir. Bu besiyeri, daha sonra, bir kaç defa değiştirilmiştir.^{1,2}

MacConkey II Agar formülasyonu 1987'de kümelenen *Proteus* türlerinin inhibisyonunu artırmak, laktoz fermenterleri ile fermente etmeyenlerin ayrıştırılmasını daha kesin bir şekilde sağlamak üzere ve enterik bakterilerin üstün gelişimi için tasarlanmıştır. MacConkey II Agar'da, peptonlar besin sağlar. Kristal viyole gram pozitif bakterileri, özellikle de enterokok ve stafilokokları inhibe etmek için katılmıştır. Enterik mikroorganizmaların ayrıştırılması laktoz ve nötral kırmızı pH indikatörünün kombinasyonu ile sağlanır. İzolatın karbohidratı fermente etme yeteneğine bağlı olarak renksiz veya pembe ile kırmızı renkte koloniler üretilir.³⁻⁵

Ellner ve ark., 1966'da, Columbia Agar olarak tanımlanmış olan bir kan agar formülasyonunun gelişimini bildirmiştir.⁶ Benzer kan agarı bazlarına göre daha büyük koloniler ve bol gelişim elde eden bu besiyeri, kan içeren besiyeri ve seçici formülasyonlara yönelik kullanılır. Ellner ve ark. %5 koyun kanı ile zenginleştirilmiş Columbia agar bazda litrede 10 mg kolistin ve 15 mg nalidiksik asit içeren besiyerinin *Proteus*, *Klebsiella* ve *Pseudomonas* türlerinin gelişimini inhibe ederken stafilokok, hemolitik streptokok ve enterokok gelişimini desteklediğini bulmuştur.⁶ Yıllar içinde, bakterilerin antimikrobiyal ajanlara direnci artmıştır. Bu özellikle inhibe edilmesi gereken Gram negatif rodlar için geçerlidir ancak çoğunlukla Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood üzerinde büyümeye neden olur. Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (%5 Koyun Kanı ile iyileştirilmiş Columbia CNA Agarı)'ye bu besiyerinin iyi seçiciliğini korumak için az miktarda aztreonam eklenir ve özellikle stafilokoklar başta olmak üzere gram-pozitif kokların geri kazanımını arttırmak için nalidiksik asit konsantrasyonu 5,5 mg/l'ye azaltılmıştır. Kolistin konsantrasyonu aynı kalmıştır. Aztreonam yalnızca çoğu Gram negatif bakteriye karşı aktivite gösteren bir monobaktamken, Gram pozitif organizmalar etkilenmemektedir.⁷⁻⁹ Koyun kanı özellikle streptokokların olası tanısında önemli olan hemolitik reaksiyonların saptanmasına izin verir.¹⁰

Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (%5 Koyun Kanı ile iyileştirilmiş Columbia CNA Agarı)'nin Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood'a göre ana avantajı daha çok 18 ila 24 saatlik inkübasyondan sonra saptanan iyileşmiş stafilokok büyümesi ve özellikle *Proteus* spp. başta olmak üzere dirençli gram-negatif bakterilerin daha iyi inhibisyonudur.

Bir çift plakta bu iki besiyerinin kombinasyonu (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) (%5 Koyun Kanı ile iyileştirilmiş Columbia CNA Agarı (Çift Plak)), klinik örneklerden Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin seçici izolasyonu için kullanılan iyileştirilmiş bir besiyeridir.

REAKTİFLER

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

1 Litre Saf Su için Formüller*

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Jelatinin Pankreatik Dijesti	17,0 g	Peptonlar	20,0 g
Kazeinin Pankreatik Dijesti	1,5	Maya Ekstraktı	3,5
Hayvan Dokularının Peptik Dijesti	1,5	Siğır kalbinin triptik dijesti	3,0
Laktoz	10,0	Mısır Nişastası	1,0
Safra Tuzları	1,5	Sodyum Klorür	5,0
Sodyum Klorür	5,0	Kolistin	10,0 mg
Nötral Kırmızı	0,03	Nalidiksik Asit	5,5
Kristal Viyole	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Defibrinleştirilmiş Koyun Kanı	%5
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Performans kriterlerini karşılamak üzere gereken şekilde ayarlanmış ve/veya desteklenmiştir.

ÖNLEMLER

IVD . Yalnızca profesyonel kullanım içindir. ⓧ

Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma, çatlama veya diğer bozulma belirtileri görülen plakları kullanmayın.

Aseptik kullanım prosedürleri, biyolojik tehlikeler ve kullanılmış ürünün atılmasıyla ilgili olarak **GENEL KULLANIM TALİMATLARI** belgesine bakın.

SAKLAMA VE RAF ÖMRÜ

Alındıktan sonra plakları kullanana kadar orijinal kaplı ambalajında karanlıkta 2 ila 8 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve aşırı ısıtmaktan kaçının. Plaklar son kullanma tarihine kadar (ambalaj etiketine bakın) ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir.

10 plaklık açılmış yığınardan alınan plaklar temiz bir alanda, 2 ila 8 °C'de saklandığında bir hafta kullanılabilir.

KULLANICI TARAFINDAN KALİTE KONTROLÜ

Temsili örnekleri aşağıdaki suşlar ile inoküle edin (detaylar için, bkz. **GENEL KULLANIM**

TALİMATLARI belgesi). Plakları tercihen ters konumda 35 ila 37 °C'de aerobik olarak 18 ila 24 saat inkübe edin.

Suşlar	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	İyi ila mükemmel gelişim; safra çökeltisi bulunan pembe ila kırmızı koloniler	Tam inhibisyon
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	İyi ile mükemmel gelişim, bej ila kahverengimsi koloniler, kümelenme inhibe edilmiş	Tam inhibisyon
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	İnhibisyon (kısmi ila tam)	İyi ila mükemmel gelişim; küçük gri koloniler
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Tam inhibisyon	Beta hemoliz olan beyaz ila sarımsı koloniler
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Test edilmedi	Küçük, grimsi koloniler; beta hemoliz
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Test edilmedi	Küçük yeşil koloniler; alfa hemoliz
İnoküle edilmemiş	Açık pembe, hafif opalesan	Kırmızı, opak

PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (90 mm **Stacker** çift plağı). Mikrobiyolojik açıdan kontrol edilmiştir.

Sağlanmayan Malzemeler

Yardımcı kültür ortamı, reaktifler ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Örnek Türleri

Bu çift plağın içerdiği besiyerleri, tüm klinik örnek türlerinden bir çok Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin seçici izolasyonu için kullanılmaktadır (aynı zamanda bkz. **PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR**).

Test Prosedürü

Örnek laboratuvara ulaştığında olabildiğince kısa sürede örneği sürme yöntemi ile ekin. Sürme plak, temel olarak karışık flora içeren örneklerden saf kültürleri izole etmek için kullanılır.

Bu çift plağı swab'dan örnekler ile inoküle etmek için, ilk olarak swab'ı Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, Improved II'nin küçük bir bölgesine ve ardından MacConkey II Agar'ın küçük bir bölgesine sürün. Her bir besiyeri için taze bir öze kullanarak inoküle edilmiş alanlardan izolasyon için sürerek ekin. Ortam havasında 24 ila 48 saat boyunca 35-37 °C'de inkübe edin. Bu ürünün MacConkey Agar'ın karbon dioksit ile zenginleştirilmiş aerobik bir atmosferde inkübe edilmesi tavsiye edilmez.¹¹

Bu çift plağın her iki besiyerinde de inhibe edilen veya ortam havasında büyümeyen Gram pozitif ve Gram negatif organizmalar mevcut olduğundan, 24 ila 48 saat boyunca 35-37 °C'de karbon dioksit ile zenginleştirilmiş aerobik bir atmosferde inkübe edilmiş seçici olmayan bir kan agarı plağının, e.g., **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (%5 Koyun Kanı bulunan BD Columbia Agar) katılması önerilir.

Sonuçlar

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

üzerindeki tipik gelişim sonuçları aşağıdaki gibidir:

Organizmalar	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Pembe ile gül kırmızısı (safra çökeltisinden oluşan bir zon ile çevrili olabilirler)	İnhibisyon (kısmi ila tam)
<i>Enterobacter</i>	Mükoid, pembe	İnhibisyon (kısmi ila tam)
<i>Klebsiella</i>	Mükoid, pembe	İnhibisyon (kısmi ila tam)
<i>Proteus</i>	Renksiz, kümelenme inhibe edilmiş	(Kısmi ila) Tam inhibisyon; kümelenme inhibe edilmiş
<i>Salmonella</i>	Renksiz	Tam inhibisyon
<i>Shigella</i>	Renksiz	Tam inhibisyon
<i>Pseudomonas</i>	Düzensiz, renksiz ila pembe	İnhibisyon (kısmi ila tam)
Stafilokok	Kısmi ila tam inhibisyon	Gelişim; beyaz ila sarı, küçük ila orta büyüklükte koloniler, beta hemoliz olan veya olmayan
Streptokok	Tam inhibisyon	Gelişim; beta veya alfa hemoliz olan veya olmayan ufak tefek ila orta büyüklükte koloniler
Enterokoklar	Kısmi ila tam inhibisyon	Gelişim; ufak tefek ila orta büyüklükte koloniler; grimsi sınırları olabilir, genellikle hemolitik değil

Yukarıda listelenmeyen başka Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler de bu besiyerlerinde gelişebilir. Gelişimin ayrıntıları ve yorumlanması için, referanslara bakın.^{4,10,12}

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

BD MacConkey II Agar klinik örneklerin birincil plağı ve klinik olmayan çeşitli malzemeler için kullanılan standart besiyerlerinden biridir. Bu besiyeri üzerinde, *Enterobacteriaceae* familyasına ait tüm organizmalar ve *Pseudomonas* ve ilgili cinsler gibi diğer çeşitli Gram negatif çubuklar gelişecektir. Seçici içeriğe duyarlı ferment etmeyenler veya diğer Gram negatif rodlar bu besiyerinde gelişmez. Bu besiyerini spesifik organizmalar için kullanmadan önce referanslardaki ilgili bölümlere bakın.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood klinik örneklerden elde edilen aerobik olarak gelişen bir çok Gram pozitif mikroorganizmanın, örn., streptokok, stafilokok, korineformlar, *Listeria* spp ve diğerleri, izolasyonu ve kültivasyonu için iyileştirilmiş seçici bir besiyeridir. Besiyeri stafilokok, enterokok ve streptokokların daha hızlı saptanmasını sağlar ve Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood'dan daha iyi Gram negatif bakteri inhibisyonuna olanak tanır.

Kurum içi performans değerlendirmelerinde, Tablo 1'de bahsedilen türlere ait 38 suş (klinik izolatlar ve koleksiyon suşları) ve birçok Gram negatif bakteri **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** üzerinde büyüme açısından test edilmiştir. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)** gelişim referans besiyeri olarak kullanılmıştır. Plakları 18 ila 24 saat boyunca 35-37 °C'de aerobik atmosferde inkübe edilmiştir.

Kinolona dirençli *Proteus* suşları Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood üzerinde tamamen inhibe edilmiştir ancak MacConkey II Agar ve Columbia Agar üzerinde ağır büyümeye yol açmıştır.

Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood üzerinde koloni boyutları ve hemolitik bölgeler Columbia Agar'ındaki ile benzer bulunmuştur. *Corynebacterium diphtheriae* haricinde tüm gram pozitif suşlar 18-20 saatlik aerobik inkübasyonda Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood üzerinde büyüme sağlamıştır ve MacConkey II Agar'da tamamen inhibe olmuştur. *C. diphtheriae* 42 saatlik inkübasyon gerektirmiştir. Test, sıradan Columbia CNA Agar üzerinde 2 gün inkübasyon gerektiren stafilokokları içermiştir.

Tablo 1: Gram pozitif türler **BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood** (aerobik inkübasyon) üzerinde test edilmiş ve geri kazanılmıştır.

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

* **CNA-II** ve **CNA** saptanması için 48 saat inkübasyon gerekir.

Kısıtlamalar: Seçici içeriğe direnç gösteren Gram negatif bakteriler bu besiyerinde gelişebilir.

Candida türleri ve diğer mantarlar bu besiyerinde inhibe edilmez.

Gram pozitif bakteriler olmalarına rağmen, *Bacillus* spp. gibi aerobik spor oluşturmalar Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood üzerinde inhibe olabilir.

Corynebacteria, 42 ila 48 saat Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood inkübasyonu gerektirebilir.

Streptococcus intermedius ve *Streptococcus milleri* gibi bazı streptokokların büyüme için CO₂'den zengin veya anaerobik bir ortama ihtiyacı olabilir.

Columbia Agar nispeten yüksek bir karbonhidrat içeriğine sahiptir. Dolayısıyla, beta hemolitik streptokoklar Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood üzerinde alfa hemoliz ile karıştırılabilen yeşilimsi hemolitik reaksiyon oluşturabilir.

Çok çeşitli Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**'in içerdiği besiyerlerinde birinde gelişse de, bir örnekte bulunabilen tüm patojenlerin birincil izolasyonu için seçici olmayan bir besiyerinin katılması önerilir.¹⁰ **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** bu amaç için kullanılabilen, sık kullanılan seçici olmayan bir birincil plak besiyeridir. *Neisseria* veya *Haemophilus* gibi güç üreyen organizmaların izolasyonu için, eğer bu organizmalar bekleniyorsa bir çikolata agarı plağı, örn. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalEx)** da örnekle birlikte inoküle edilmelidir.

Bazı *Enterobakterilerin* ve *Pseudomonas aeruginosa'nın* CO₂'den zengin bir ortamda inkübe edildiğinde MacConkey Agar'da inhibe olduğu bildirilmiştir.¹¹ Dolayısıyla, **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** CO₂'den zengin bir ortamda inkübe edilmemelidir.

Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood besiyeri üzerinde güçlü stafilokok büyümesi gösteren bazı plaklarda ve MacConkey II Agar'da hiçbir büyüme göstermeyen plaklarda, MacConkey II Agar besiyerinin renginde solma gözlenmiştir. MacConkey II Agar üzerinde gram negatif bakterilerin geri kazanımı ve tipik koloni rengi değişimi üzerine hiçbir etki gözlenmemiştir.

Belirli tanı testlerinin doğrudan bu besiyerlerinde gerçekleştirilebilmesine rağmen, izolatların tam tanımlanması için saf kültürlerin kullanıldığı biyokimyasal ve belirtilmişse immünolojik test gereklidir.

REFERANSLAR

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.

AMBALAJ/TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

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

Kat. No.	Açıklama
REF 257574	Kullanıma Hazır Plak Besiyeri, cpu 20
REF 257584	Kullanıma Hazır Plak Besiyeri, cpu 120

EK BİLGİ

Daha fazla bilgi için lütfen yerel BD temsilcinizle temasa geçin.



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, American Type Culture Collection'in ticari markasıdır.

BD, BD logo ve Stacker Becton, Dickinson and Company'nin ticari markalarıdır.

© 2015 Becton, Dickinson and Company