



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

ПРИЗНАЧЕННЯ

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

(агар BD Макконкі II / покращений колумбійський агар II з CNA і 5 % овечої крові [подвійна чашка]) являє собою поліпшене середовище, яке використовується для селективної ізоляції грам-негативних і грам-позитивних бактерій із клінічних зразків.

ПРИНЦИПИ ТА ОПИС МЕТОДУ

Мікробіологічний метод

Агар Макконкі – це одна з перших рецептур (опублікованих Макконкі в 1900 році) ізоляції, культивування та ідентифікації *Enterobacteriaceae* і певних неферментуючих мікроорганізмів. Пізніше це середовище було модифіковане кілька разів.^{1,2}

Рецептура агару Макконкі II була розроблена в 1987 році для вдосконалення пригнічення росту видів *Proteus* з метою досягнення більш визначеної диференціації мікроорганізмів, які здатні та нездатні ферментувати лактозу, і стимулювання росту кишкових бактерій. В агарі Макконкі II джерелом поживних речовин є пептони та м'ясний екстракт.

Кристалічний фіолетовий має пригнічувати ріст грам-позитивних бактерій, особливо ентерококів і стафілококів. Диференціація кишкових мікроорганізмів досягається за допомогою комбінації лактози та нейтрального червоного індикатора pH. Залежно від здатності ізоляту до ферментації вуглеводів, утворюються безбарвні колонії або колонії від рожевого до червоного кольору³⁻⁵.

Еллнер (Ellner) і співавтори в 1966 році описали розробку рецептури кров'яного агару, що отримав назву «колумбійський агар»⁶. Це середовище дає змогу отримати більші колонії та інтенсивніший ріст, ніж аналогічні базові кров'яні агари; використовується для середовищ із вмістом крові та селективних середовищ. Еллнер і співавтори виявили, що середовище, яке містить 10 мг колістину і 15 мг налідиксової кислоти на літр базового колумбійського агару Columbia, збагаченого 5 % овечої крові, підтримує ріст стафілококів, гемолітичних стрептококів і ентерококів, пригнічуючи при цьому ріст видів *Proteus*, *Klebsiella* та *Pseudomonas*⁶. З роками стійкість бактерій до протимікробних препаратів зросла. Це більшою мірою відноситься до грам-негативних паличок, які необхідно пригнічувати, але в агарі Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood часто спостерігається зростання. В агарі Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood додано невелику кількість азтреонаму, що забезпечує високу селективність середовища, а концентрація налідиксової кислоти скорочена до 5,5 мг/л для збільшення виділення грам-позитивних коків, особливо стафілококів, з клінічних зразків. Концентрація колістину залишилася незмінною. Азтреонам – це монобактам, який діє тільки проти більшості грам-негативних бактерій, але ніяк не впливає на грам-позитивні мікроорганізми⁷⁻⁹.

Овеча кров дає змогу виявляти гемолітичні реакції, які особливо важливі для ймовірної діагностики стрептококів¹⁰.

Основною перевагою агару Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood порівняно з агаром Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood є більш активне зростання стафілококів, які частіше виявляються через 18–24 години після інкубації, а також більш ефективне інгібування стійких грам-негативних бактерій, особливо *Proteus*.

Комбінація двох середовищ у подвійній чашці (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) використовується для селективної ізоляції грам-негативних і грам-позитивних бактерій із клінічних зразків.

РЕАГЕНТИ

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

Склад* на літр очищеної води

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Панкреатичний гідролізат желатину	17,0 г	Пептони	20,0 г
Панкреатичний гідролізат казеїну	1,5	Дріжджовий екстракт	3,5
Пептичний гідролізат тваринної тканини	1,5	Триптичний гідролізат бичачого серця	3,0
Лактоза	10,0	Кукурудзяний крохмаль	1,0
Солі жовчних кислот	1,5	Хлорид натрію	5,0
Хлорид натрію	5,0	Колістин	10,0 мг
Нейтральний червоний	0,03	Налідиксова кислота	5,5
Кристалічний фіолетовий	0,001	Азтреонам	3,0
Агар	13,5	Овеча кров, дефібринована	5 %
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*За необхідності коригується та/або доповнюється для належної ефективності.

ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

IVD

. Тільки для професійного використання. ②

Не використовуйте чашки з видимими ознаками мікробного забруднення, зміни кольору, тріщин, висушування та іншими ознаками псування.

Інформацію про асептичну методику роботи, біологічну безпеку та утилізацію використаного продукту див. в документі **ЗАГАЛЬНІ ІНСТРУКЦІЇ З ВИКОРИСТАННЯ**.

ЗБЕРІГАННЯ Й ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

Після отримання й безпосередньо до використання зберігайте чашки в темряві при температурі від 2 до 8 °C в оригінальній обгортці. Запобігайте замороженню та перегріванню. Чашки можна використовувати для посіву протягом терміну придатності (див. етикетку на упаковці) та інкубувати з дотриманням указанного часу інкубації. Чашки з відкритої стопки по 10 чашок можна використовувати протягом одного тижня за умови зберігання в чистому місці при температурі від 2 до 8 °C.

КОРИСТУВАЦЬКИЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Засійте репрезентативні зразки вказаними нижче штамми (докладніші відомості див. в документі **ЗАГАЛЬНІ ІНСТРУКЦІЇ З ВИКОРИСТАННЯ**). Інкубуйте чашки в перевернутому положенні при температурі 35–37 °C в аеробній атмосфері протягом 18–24 годин.

Штами	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Ріст від доброго до інтенсивного; колонії від рожевого до червоного кольору з осадом жовчі	Повне пригнічення росту
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Ріст від доброго до інтенсивного; колонії від блілого до коричневого кольору, ріст бактерій інгібується	Повне пригнічення росту
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Часткове або повне пригнічення росту	Ріст від доброго до інтенсивного; невеликі колонії сірого кольору
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Повне пригнічення росту	Колонії від білого до жовтуватого кольору з бета-гемолізом
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Тестування не проводилося	Невеликі колонії сірого кольору; бета-гемоліз
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Тестування не проводилося	Невеликі колонії від зеленого до сірого кольору; альфа-гемоліз
Без посіву	Світло-рожеві, злегка опалесцентні	Червоний колір, мутність

ПРОЦЕДУРА

Матеріали, що входять у комплект

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (подвійні чашки **Stacker** 90 мм). Продукт пройшов мікробіологічний контроль.

Матеріали, що не входять у комплект

Допоміжні поживні середовища, реагенти та лабораторне обладнання, необхідне для цієї процедури.

Типи зразків

Середовище, що міститься в подвійній чашці, використовується для селективної ізоляції грам-негативних і грам-позитивних бактерій із клінічних зразків (див. також розділ **РОБОЧИ**

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТА ОБМЕЖЕННЯ МЕТОДУ.

Процедура тестування

Виконайте посів зразка якнайскоріше після надходження до лабораторії. Чашка для посіву використовується в основному для відділення чистих культур від зразків, що містять змішану флору.

Для посіву цієї подвійної чашки зразками з тампона спочатку проведіть тампоном над невеликою ділянкою з агаром **Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**, а потім над невеликою ділянкою з агаром **MacConkey II Agar**. Використовуючи нову петлю для кожного середовища, нанесіть штрихи, щоб ізолювати засіяні ділянки. Проводьте інкубацію при температурі 35–37 °C протягом 24–48 годин. Не рекомендується інкубувати цей продукт в аеробної атмосфері, збагаченій діоксидом вуглецю, оскільки результати для агару **MacConkey Agar** можуть відрізнятися від результатів, отриманих під час інкубації в навколишньому повітрі¹¹.

Оскільки в обох середовищах присутні грам-позитивні і грам-негативні мікроорганізми, які інгібуються в обох середовищах у подвійній чашці або не ростуть у навколишньому повітрі, рекомендується включити чашку з неселективним кров'яним агаром, наприклад агаром **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, який інкубовано 24-48 годин при температурі 35–37 °C в аеробній атмосфері, збагаченій діоксидом вуглецю.

Результати

Типові результати зростання в агарі **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** :

Мікроорганізми	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Від рожевого до рожево-червоного кольору (може бути оточений зоною жовтого осаду)	Часткове або повне пригнічення росту
<i>Enterobacter</i>	Слизоподібний, рожевого кольору	Часткове або повне пригнічення росту
<i>Klebsiella</i>	Слизоподібний, рожевого кольору	Часткове або повне пригнічення росту
<i>Proteus</i>	Безбарвний, ріст обмежено	Інгібування від часткового до повного; ріст пригнічується
<i>Salmonella</i>	Безбарвний	Повне пригнічення росту
<i>Shigella</i>	Безбарвний	Повне пригнічення росту
<i>Pseudomonas</i>	Нерівномірний, від безбарвного до рожевого кольору	Часткове або повне пригнічення росту
Стафілококи	Часткове або повне пригнічення росту	Ріст; від білого до жовтого кольору; колонії від невеликого до середнього розміру з бета-гемолізом або без нього
Стрептококи	Повне пригнічення росту	Ріст; від невеликого до середнього розміру з бета- чи альфа-гемолізом або без нього
Ентерококи	Часткове або повне пригнічення росту	Ріст; колонії від невеликого до середнього розміру; можуть бути сірі кордони, зазвичай без гемолізу

В середовищі також можливе зростання інших грам-позитивних і грам-негативних бактерій, не зазначених у списку. Докладнішу інформацію про ріст бактерій та інтерпретацію результатів див. в довідкових матеріалах^{4,10,12}.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТА ОБМЕЖЕННЯ МЕТОДУ

Агар **BD MacConkey II Agar** – це одне із стандартних середовищ, які використовуються в основному для первинного засівання клінічних зразків і низки неклінічних матеріалів. У цьому середовищі ростуть усі мікроорганізми родини *Enterobacteriaceae* та низки інших грам-негативних паличок, наприклад *Pseudomonas* і подібних у межах роду. Тим не менш, у цьому середовищі не ростуть неферментуючі бактерії чи інші грам-негативні палички, чутливі до селективних інгредієнтів. Перед використанням середовища для певних мікроорганізмів ознайомтеся з відповідними розділами довідкових матеріалів^{4,10,12}.

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood – це покращене селективне середовище для виділення й культивування багатьох аеробних грам-позитивних мікроорганізмів, як-от стрептококів, стафілококів, видів *Listeria* тощо, з клінічних зразків. Середовище дає змогу швидше виявляти стафілококи, ентерококи та стрептококи, а також більш ефективно інгібувати грам-негативні бактерії, ніж агар Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

Під час внутрішнього оцінювання якості діагностики 38 штамів (клінічні ізоляти і колекційні штами) грам-позитивних бактерій, що належать видам, указаним у таблиці 1, і багато грам-негативних бактерій протестовано на ріст в агарі **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. Як еталонне середовище використовувався агар **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)**. Чашки інкубувалися в аеробній атмосфері протягом 18–24 годин при температурі 35–37 °C. Штами *Proteus*, стійкі до хінолонів, були повністю інгібовані в агарі Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, але показали хороший ріст в агарі MacConkey II Agar та колумбійському агарі.

Розмір колоній і гемолітичні зони в агарі Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood були порівнянні з аналогічними показниками в колумбійському агарі. Усі грам-позитивні штами, за винятком *Corynebacterium diphtheriae*, показали ріст в агарі Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood протягом 18–20 годин в аеробній атмосфері і були повністю інгібовані в агарі MacConkey II Agar. *C. diphtheriae* потрібно було 42 години на інкубацію. Тестування включало стафілококи, яким було потрібно два дні на інкубацію в звичайному колумбійському агарі CNA.

Таблиця 1. Грам-позитивні види, протестовані і виділені в агарі **BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood** (аеробна інкубація)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus</i> групи C
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus</i> групи 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 виявлення в CNA-II та CNA потрібна інкубація протягом 48 годин.

Обмеження. На цьому середовищі можуть рости грам-негативні бактерії, стійкі до селективних компонентів.

Ріст видів *Candida* та інших грибків на цьому середовищі не пригнічується.

Ріст аеробних спороутворюючих бактерій (як-от видів *Bacillus*) може пригнічуватися на агарі Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Інкубація коринебактерій в агарі Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood може тривати 42–48 годин.

Для росту деяких стрептококів, наприклад *Streptococcus intermedius* і *Streptococcus milleri*, може знадобитися збагачена CO₂ або анаеробна атмосфера.

Основа з колумбійського агара характеризується відносно високим вмістом вуглеводів. Тому бета-гемолітичні стрептококи можуть викликати зеленуватий колір при гемолітичній реакції, яка може бути помилково прийнята за альфа-гемоліз в агарі Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Незважаючи на те, що багато грам-негативних і грам-позитивних бактерій зростатимуть в одному із середовищ, що містяться в агарі **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**, рекомендовано включити неселективне середовище для первинної ізоляції всіх патогенів, які можуть бути присутні в зразках¹⁰.

Агар **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** – це поширене неселективне середовище, яке може використовуватися для цих цілей. Для ізоляції мікроорганізмів, вимогливих до живильного середовища, наприклад *Neisseria* або *Haemophilus*, необхідно також включити в зразок шоколадний агар, наприклад **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalEx)**, якщо передбачається наявність цих мікроорганізмів.

Повідомляється, що деякі види *Enterobacteriaceae* та *Pseudomonas aeruginosa* інгібуються на агарі Макконкі під час інкубації в CO₂-збагаченій атмосфері¹¹. Тому агар **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** не слід інкубувати в CO₂-збагаченій атмосфері.

На деяких чашках з активним ростом стафілококів у середовищі з агаром Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood і відсутністю зростання в середовищі з агаром MacConkey II Agar спостерігалось знебарвлення середовища з агаром MacConkey II Agar. Це не справляє негативного впливу на відновлення та звичайне фарбування колонії грам-негативних бактерій на агарі MacConkey II Agar.

Хоча деякі діагностичні тести можна здійснювати безпосередньо на цих середовищах, для остаточної ідентифікації ізолятів слід провести біохімічні, а за показаннями й імунологічні дослідження з використанням чистих культур.

ДОВІДКОВІ МАТЕРІАЛИ

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.

ПАКУВАННЯ/НАЯВНІСТЬ

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

№ за каталогом	Опис
№ 257574	Готові до використання поживні середовища в чашках, 20 штук
№ 257584	Готові до використання поживні середовища в чашках, 120 штук

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

По додаткову інформацію звертайтеся до місцевого представника компанії 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 є торговою маркою Американської колекції типових культур

BD, логотип BD і Stacker є торговими марками компанії Becton, Dickinson and Company

© 2015 Becton, Dickinson and Company