



BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) (BD CLED агар/MacConkey II агар (две петрита)) е предназначен за микробиологичен анализ на урина. CLED Agar е диференцираща културална среда, използвана за изолиране и преброяване на бактериите в урината. MacConkey II Agar е селективна и диференцираща среда за изолиране и диференциране на *Enterobacteriaceae* и различни други грамотрицателни пръчици от клинични и неклинични материали.

ПРИНЦИПИ И ОБЯСНЕНИЕ НА ПРОЦЕДУРАТА

Микробиологичен метод.

CLED Agar: През 1960 г. Sandys съобщава за развитието на нов метод за предотвратяване на прорастването на *Proteus* върху твърди среди чрез ограничаване на електролитите в културалната среда, която в следствие неколккратно е модифицирана, с цел използването ѝ за култури от урина.¹⁻³ Обозначена е като Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient (CLED) (цистинлактозна безелектролитна) среда и докладвана като идеална за бактериологията на урината.

В CLED Agar хранителните вещества се осигуряват от пептони и екстракт от говеждо. Лактозата е източник на енергия за микроорганизмите, които имат способността да я оползотворяват чрез ферментационен механизъм. Бромтимолово синьо е индикатор за pH за диференциране на лактозо-ферментиращи от лактозо-неферментиращи микроорганизми. Микроорганизмите, които ферментират лактозата ще предизвикат намаляване на pH и промяна на цвета на средата от зелен в жълт. Цистинът позволява растежа на „колонии джуджета“ от колиформени микроорганизми.³ Източниците на електролити са намалени с цел да се сведе до минимум прорастването на вида *Proteus*.

MacConkey II Agar: Една от най-старите рецептури за хранителни среди за диференциране на *Enterobacteriaceae* е разработена от MacConkey и публикувана през 1900 и 1905 г.^{4,5} Рецептурата е създадена, след като е било известно, че жлъчните соли преципитират от киселини и някои чревни микроорганизми ферментират лактоза, докато други не притежават тази способност. По-късно тази среда е модифицирана няколко пъти.^{6,7} MacConkey Agar е слабоселективна среда, тъй като концентрацията на жлъчни соли, които инхибират грамположителни микроорганизми, е ниска в сравнение с другите чревни среди за посевка. Тази среда се препоръчва за употреба при клиничен материал, който вероятно съдържа смесена микробна флора, като например урина или множество други материали, тъй като позволява предварително групиране на *Enterobacteriaceae* и други грамотрицателни пръчици на лактозо-ферментиращи и лактозо-неферментиращи.⁷⁻¹⁰

Формулата на MacConkey II Agar е създадена с цел да се подобри инхибирането на прорастването на вида *Proteus*, за да се постигне по-добра диференциация между лактозо-ферментиращи и лактозо-неферментиращи, както и по-добро култивиране. В MacConkey II Agar хранителните вещества се осигуряват от пептони. Кристал виолетът инхибира грамположителните бактерии, особено ентерококите и стафилококите. Диференцирането на чревните микроорганизми се постига чрез комбинацията от лактоза и индикатора за pH неутрално червено. Образуват се безцветни или розови до червени колонии в зависимост от способността на изолата да осъществява ферментация на въглехидрати.

Наличието на CLED и на MacConkey II Agar в настоящата разлята в две петрита среда позволява определянето на общия брой микроорганизми (микробното число) и изолирането на грамположителните и грамотрицателните бактерии от урина за изследване.

РЕАГЕНТИ

CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)

Формула* на литър пречистена вода

CLED Agar:		MacConkey II Agar:	
Извлек от панкреатичен желати	4,0 g	Извлек от панкреатичен желатин	17,0 g
Извлек от панкреатичен казеин	4,0	Извлек от панкреатичен казеин	1,5
Екстракт от говеждо месо	3,0	Храносмилателен извлек от животинс	1,5
Лактоза	10,0	Лактоза	10,0
L-цистин	0,128	Жлъчни соли	1,5
Бромтимолово синьо	0,02	Натриев хлорид	5,0
Агар	15,0	Неутрално червено	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Кристал виолет	0,001
		Агар	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

*Коригирана и/или допълнена според нуждите, за да отговаря на критериите за ефективно функциониране.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

За употреба при ин витро диагностика **IVD**. Само за професионална употреба. 
Не използвайте петритата, ако има признаци на микробно замърсяване, обезцветяване, изсушаване, пукнатини или други признаци на увреждане.

СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ

След получаване съхранявайте петритата на тъмно, при температура от 2 до 8°C, в оригиналната им маншетна опаковка до момента на непосредствената им употреба. Не допускате замразяване и прегряване. Петритата може да бъдат инокуирани до изтичане на срока на годност (виж етикета на опаковката) и инкубирани в срока на препоръчителното инкубационно време.

Отворените комплекти от 10 петрита могат да се използват в продължение на една седмица при съхранение на чисто място при температура 2 до 8°C.

ПОТРЕБИТЕЛСКИ КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

Инокулирайте представителни проби, съдържащи следните щамове (за подробности вижте документа **ОБЩИ УКАЗАНИЯ ЗА УПОТРЕБА**). Инкубирайте петритата при температура 35 ± 2°C в аеробна атмосфера.

Отчетете петритата след 18 до 24 часа за ниво на растеж, пигментация, размера на колонията и инхибиране на прорастването/разпространението на *Proteus*.

Щамове	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Растеж; колонии - жълти, среда - жълта	Растеж; розови колонии
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Растеж; колонии - безцветни до сини; прорастване - инхибирано; слабо разпространение - допустимо	Растеж; безцветни до бежови колонии, прорастване - инхибирано
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Растеж; колонии - безцветни до жълти; среда - жълта	Инхибиране - частично до цялостно
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Растеж; колонии - малки, жълти; среда - жълта	Инхибиране - частично до цялостно
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Растеж; колонии - малки, бели до жълтеникави; среда - жълта	Инхибиране - частично до цялостно
Неинокулирана	Зелени до синьо-зелени	Светло розови, слабо опалесциращи

ПРОЦЕДУРА

Предоставени материали

BD CLED Agar/MacConkey II Agar (90 mm две петрита). Микробиологично проверени.

Непредоставени материали

Допълнителна културална среда, реагенти и лабораторно оборудване според нуждите.

Тип на материалите за изследване и вземане на материал за изследване

Тази среда се използва изключително за преброяване и диференциране на бактериите в урината. Може да се използва средна порция или взета с катетър урина, или урина, взета чрез супрапубична пункция на пикочния мехур (виж също и **РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА**). Спазвайте асептични техники при вземане на урината за изследване. Урината трябва да се нанесе на щрих директно върху средата след не повече от 2 часа от вземането ѝ или трябва да се съхранява в хладилник (за не повече от 24 часа), за да се избегне свръхрастеж на инфекциозни агенти или замърсявания преди инокулиране на тази среда.⁸⁻¹¹

Тестова процедура

Вземете проба от неразредена, добре смесена урина с помощта на калибрирана примка (0,01 или 0,001 mL) за всяко от двете среди на настоящата двойна петриева паничка. Убедете се, че примката е напълнена с материал за изследване. Първо, нанесете щрих от проба от урината върху CLED Agar, а след това - щрих от втора проба върху MacConkey II Agar. Инкубирайте петритата в аеробни условия на $35 \pm 2^\circ\text{C}$ за 24 до 48 часа. Не инкубирайте в обогатена с CO_2 аеробна атмосфера!

Изчисляване и интерпретиране на резултати

Пребройте броя на колонии (CFU) върху петрито. Ако е използвана 0,01 mL примка, всяка резултираща колония представлява 100 CFU/mL; ако е използвана 0,001 mL примка, всяка колония отговаря на 1000 CFU/mL урина.⁸

Катетърна урина и урина от средна струя: Настоящото ръководство сочи, че за единичен изолат плътност от $\geq 10^5$ CFU/mL показва инфекция, $<10^5$ CFU/mL показва уретрално или вагинално замърсяване, а плътност между 10^4 и 10^5 CFU/mL изисква повторна оценка въз основа на клинична информация.⁸⁻¹¹

Урина от надпубисна пункция на пикочния мехур: Тъй като мехурът е стерил при неинфектирани индивиди, всяко откритие на CFU сочи инфекция.

Патогените в урината обикновено дават високи стойности на микробното число, като колонии са морфологично еднородни, а контаминиращите бактерии обикновено се откриват при ниски микробни числа и са с разнообразна морфология на колонии.

Докато CLED Agar позволява растеж на грамположителни и на грамотрицателни бактерии, грамположителните бактерии са частично или напълно инхибирани върху MacConkey II Agar. Растежът върху MacConkey II Agar Medium показва наличие на грамположителни пръчици, например *Enterobacteriaceae* (като *E. coli* и др.). CLED und MacConkey II Agar само правят възможно предполагаемото диференциране на колонии по способността за ферментация на лактоза. За пълно идентифициране и за определяне на антимикробната чувствителност, трябва да се осъществят допълнителни изследвания.¹⁰⁻¹²

Типичната морфология на колонии върху **BD CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)** е следната:

Микроорганизми	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Колонии - жълти, непрозрачни; среда - жълта	Растеж; розови колонии
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Жълти до белезникаво-сини колонии, често мукоидни; жълтеникава среда	Мукоидни, розови колонии
<i>Proteus</i>	Полупрозрачни сини колонии; синьо-зелена до синя среда	Растеж; безцветни до бежови колонии, прорастване - инхибирано
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Зелени колонии с типично матова повърхност и грубо начленена периферия; синя среда	Неправилни, безцветни до розови колонии
Enterococci	Малки, жълти колонии, жълта среда	Инхибиране - частично до цялостно
<i>Staphylococcus aureus</i>	Тъмножълти колонии; еднородни по цвят; жълта среда	Инхибиране - частично до цялостно
Коагулазоотрицателни от вид staphylococci	Бледожълти колонии, по-непрозрачни от enterococci	Инхибиране - частично до цялостно

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

CLED Agar е подходяща за изолиране и определяне на броя на много аеробно растящи микроорганизми, като например *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* и други, неферментиращи грамотрицателни пръчици, видовете enterococci, staphylococci, *Candida* и много други от урина за изследване.

Стафилококите и другите микроорганизми, които изискват кръв или серум, за да растат, на тази среда могат да бъдат изолирани едва в незадоволителна степен и може да е необходимо продължително инкубиране. Поради това, материалът за изследване трябва да се култивира и върху кръвен агар, ако се очаква наличие на посочените микроорганизми. Урогениталните патогени, като например *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma*, или други със специални хранителни изисквания, не растат върху тази среда. Направете справка със справочната литература за подходящите техники за откриване на тези микроорганизми.^{9,10,12}

Въпреки че е възможно да се направи диференциация според лактозната ферментация и някои диагностични тестове може да се направят директно върху тази среда, за цялостно идентифициране е необходимо биологичното и при показания и имунологичното тестване на чисти култури.¹⁰⁻¹²

MacConkey II Agar е една от стандартните среди, използвани за първично култивиране на клинични материали за изследване и за различни неклинични материали. Върху тази среда ще растат всички микроорганизми от семейство *Enterobacteriaceae* както и някои други грамотрицателни пръчици, напр. *Pseudomonas* и свързани родове.

Неферментиращите растат върху тази среда, ако са резистентни към селективните й компоненти. Направете справка със съответните глави в справочната литература, преди да използвате средата за специфични организми.^{8,10}

Съобщава се, че някои *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonas aeruginosa* се инхибират върху MacConkey Agar, ако се инкубират в обогатена с CO₂ атмосфера.¹³

Въпреки че определени диагностични тестове могат да бъдат непосредствено провеждани в тази среда, за пълното идентифициране е необходимо биохимично и ако е показано, имунологично изследване с чисти култури. За справка вижте съответната справочна литература.^{8,10,12}

СПРАВОЧНА ЛИТЕРАТУРА

1. Sandys, G.H. 1960. A new method of preventing swarming of *Proteus* sp. with a description of a new medium suitable for use in routine laboratory practice. *J. Med. Lab. Technol.* 17:224-233.
2. Mackey, J.P., and G.H. Sandys. 1965. Laboratory diagnosis of infection of the urinary tract in general practice by means of a dip-inoculum transport medium. *Br. Med. J.* 2:1286-1288.
3. Mackey, J.P., and G.H. Sandys. 1966. Diagnosis of urinary infections. *Br. Med. J.* 1:1173.
4. MacConkey, A.T. 1900. Note on a new medium for the growth and differentiation of the *Bacillus coli communis* and the *Bacillus typhi abdominalis*. *The Lancet*, Part II:20.
5. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. *J. Hyg.* 5:333-379.
6. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
7. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Gattermann, S., et al. 1997. Harnwegsinfektionen. In: Mauch, H, et al. (ed.). *MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologischen Diagnostik*, vol. 2. Fischer Verlag, Stuttgart, Jena.
10. Gallien, R. 1988. *Mikrobiologische Diagnostik in der ärztlichen Praxis – ein Leitfaden*. Fischer Verlag, Stuttgart.
11. Clarridge, J.E., M.T. Pezzlo, and K.L. Vosti. 1987. Cumitech 2A, Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Coordinating ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO₂ vs. ambient incubation, abstr. C 179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.

ОПАКОВКА/НАЛИЧНОСТ

CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)

Кат. No. 257562

Готова за употреба, разлята в петрита среда, 20 петрита

Кат. No. 257680

Готова за употреба, разлята в петрита среда, 120 петрита



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 е търговска марка на American Type Culture Collection (американската колекция на типови култури)
BD, логото на BD и всички други търговски марки са собственост на Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD

Вж. „Справочна литература“ в текста на английски език.

Само Rx

Технически отдел и обслужване на клиенти на BD Diagnostics: Свържете се с местния представител на BD.