

## **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)**

### **ÚČEL POUŽITÍ**

**BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** (Agar BD CLED / MacConkeyho agar II (dvojitá miska)) slouží k mikrobiologické analýze moči. CLED Agar je rozlišovací kultivační médium sloužící k izolaci a stanovení počtu bakterií v moči. MacConkey II Agar je selektivní a rozlišovací médium pro izolaci a rozlišení čeledi *Enterobacteriaceae* a nejrůznějších jiných gram-negativních tyčinek z klinických a neklinických vzorků.

### **ZÁSADY A VYSVĚTLENÍ POSTUPU**

Mikrobiologická metoda

CLED Agar: V roce 1960 oznámil Sandys vypracování nové metody zamezení plazivého růstu bakterií rodu *Proteus* na pevných médiích omezením elektrolytů v kultivačním médiu, které bylo později několikrát upraveno pro kultivaci moči.<sup>1-3</sup> Toto médium bylo označeno jako médium chudé na cystin, laktózu a elektrolyt (médium Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient, CLED), které je ideální pro urinární bakteriologii.

U agaru CLED Agar zajišťují výživu peptony a hovězí extrakt. Laktóza je zdrojem energie pro organismy schopné využít jí pomocí fermentačních mechanismů. Jako pH indikátor pro odlišení fermentorů laktózy od nefermentorů laktózy je použita bromthymolová modř. Organismy, které fermentují laktózu, snižují pH a mění barvu média ze zelené na žlutou. Cystin umožňuje růst koliformních „zakrslých kolonií“.<sup>3</sup> Zdroje elektrolytu jsou omezeny, aby se minimalizoval plazivý růst druhu *Proteus*.

MacConkey II Agar: Jedno z prvních médií k diferenciaci čeledi *Enterobacteriaceae* vyvinul MacConkey a publikoval jej v roce 1900 a 1905.<sup>4,5</sup> Toto složení bylo navrženo na základě precipitace žlučových solí vlivem kyselin a rozdělení organismů dle schopnosti fermentovat laktózu. Později bylo toto médium několikrát upravováno.<sup>6,7</sup>

MacConkeyho agar je pouze lehce selektivní, neboť koncentrace žlučových solí, které inhibují gram-pozitivní mikroorganismy, je nízká v porovnání s jinými médii na miskách pro enterální patogeny. Toto médium je doporučeno u klinických vzorků, které pravděpodobně obsahují smíšenou mikrobiální flóru jako např. moč a mnohé jiné, jelikož umožňuje předběžné rozdělení čeledi *Enterobacteriaceae* a jiných gram-negativních tyčinek na bakterie fermentující laktózu a bakterie laktózu nefermentující.<sup>7-10</sup>

Složení agaru MacConkey II Agar zvyšuje inhibici plazivého růstu rodu *Proteus* a zajišťuje tak lepší diferenciaci bakterií fermentujících a nefermentujících laktózu a lepší růst.

V agaru MacConkey II Agar zajišťují výživu peptony. Krystalová violet inhibuje gram-pozitivní bakterie, zvláště enterokoky a stafylokoky. Rozlišení enterálních mikroorganismů je dosaženo kombinací laktózy a neutrální červeně jako indikátoru pH. Bezbarvé nebo růžové až červené kolonie jsou produkovány v závislosti na schopnosti izolátu fermentovat sacharidy.

Přítomnost média CLED a agaru MacConkey II Agar na této dvojitě misce umožňuje stanovení celkového počtu a izolaci gram-pozitivních a gram-negativních bakterií ze vzorků moči.

## ČINIDLA

### CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Složení\* na jeden litr čišťené vody

| CLED Agar                         |       | Agar MacConkey II                  |        |
|-----------------------------------|-------|------------------------------------|--------|
| Pankreatická natrávenina želatiny | 4,0 g | Pankreatická natrávenina želatiny  | 17,0 g |
| Pankreatická natrávenina kaseinu  | 4,0   | Pankreatická natrávenina kaseinu   | 1,5    |
| Hovězí výtažek                    | 3,0   | Peptická natrávenina zvířecí tkáně | 1,5    |
| Laktóza                           | 10,0  | Laktóza                            | 10,0   |
| L-cystin                          | 0,128 | Žlučové soli                       | 1,5    |
| Bromthymolová modř                | 0,02  | Chlorid sodný                      | 5,0    |
| Agar                              | 15,0  | Neutrální červeň                   | 0,03   |
| pH 7,3 ± 0,2                      |       | Krystalová violet                  | 0,001  |
|                                   |       | Agar                               | 13,5   |
|                                   |       | pH 7,1 ± 0,2                       |        |

\*Upraveno a/nebo doplněno dle potřeby tak, aby byla splněna kritéria účinnosti.

### BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Pro diagnostiku in vitro **IVD** . Pouze k odbornému použití. ②

Pokud misky vykazují známky mikrobiální kontaminace, změny zabarvení, vysušení, popraskání nebo jiné známky poškození, nepoužívejte je.

### SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST

Po převzetí až do doby těsně před použitím skladujte misky v původním pouzdru, v temnu a při teplotě 2 až 8 °C. Chraňte před mrazem a přehřátím. Misky lze inokulovat až do data expirace (viz štítek na obalu) a inkubovat po doporučenou dobu inkubace.

Misky z otevřených sad po 10 kusech lze používat po dobu jednoho týdne, pokud jsou uloženy v čistém prostředí při teplotě 2 až 8 °C.

### KONTROLA KVALITY UŽIVATELEM

Inokulujte reprezentativní vzorky následujícími kmeny (podrobné informace naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**). Inkubujte misky při teplotě 35 ± 2 °C v aerobním prostředí.

Za 18 až 24 hodin zkontrolujte u misek rozsah růstu, pigmentaci, velikost kolonie a potlačení plazivého růstu/rozšiřování bakterií rodu *Proteus*.

| Kmeny                                             | CLED Agar                                                                               | MacConkey II Agar                                          |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 25922             | Růst, žluté kolonie, žluté médium                                                       | Růst, růžové kolonie                                       |
| <i>Proteus vulgaris</i><br>ATCC 8427              | Růst, kolonie bezbarvé až modré, plazivý růst potlačen, mírné rozšiřování je přijatelné | Růst, bezbarvé až béžové kolonie, inhibice plazivého růstu |
| <i>Enterococcus faecalis</i><br>ATCC 29212        | Růst, žluté až bezbarvé kolonie, žluté médium                                           | Částečná až úplná inhibice                                 |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 25923        | Růst, malé žluté kolonie, žluté médium                                                  | Částečná až úplná inhibice                                 |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i><br>NCTC 10516 | Růst, malé bílé až nažloutlé kolonie, žluté médium                                      | Částečná až úplná inhibice                                 |
| Slepý vzorek                                      | Zelená až modrozelená                                                                   | Světle růžové, mírně opaleskující                          |

## POSTUP

### Dodaný materiál

**BD CLED Agar / MacConkey II Agar** (90mm dvojité misky). Mikrobiologicky kontrolováno.

### Materiál, který není součástí dodávky

Pomocná kultivační média, činidla a laboratorní vybavení dle potřeby.

### Typy vzorků a jejich odběr

Toto médium se používá výhradně k výpočtu a diferenciaci bakterií v moči. Lze použít moč ze středního proudu nebo katétru nebo moč odebranou suprapubickou punkcí močového měchýře (viz také **SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A OMEZENÍ POSTUPU**). Při odběru vzorků moči dodržujte aseptické postupy. Moč je nutno rozočkovat na médium nejpozději 2 hodiny po odběru nebo musí být uchována v chladu (nejdéle 24 hodin), aby před inokulací tohoto média nedošlo k přemnožení původců infekce nebo nečistot.<sup>8-11</sup>

### Provedení testu

Pomocí kalibrované smyčky odeberte vzorek neředěné, dobře promíchané moči (0,01 nebo 0,001 mL) na každé ze dvou médií na této dvojité misce. Zkontrolujte náležité naplnění smyčky vzorkem. Nejdříve naneste vzorek moči na agar CLED Agar a poté druhý vzorek na MacConkey II Agar. Inkubujte misky aerobně při teplotě  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  po dobu 24 až 48 hodin. Neinkubujte v aerobní atmosféře obohacené  $\text{CO}_2$ .

### Výpočet a interpretace výsledků

Spočítejte počet kolonií (CFU) na misce. Pokud byla použita smyčka o objemu 0,01 mL, odpovídá každá výsledná kolonie 100 CFU/mL moči. Pokud byla použita smyčka o objemu 0,001 mL, odpovídá každá kolonie 1000 CFU/mL moči.<sup>8</sup>

Moč ze středního proudu a katétru: Současné pokyny uvádějí, že u jednoho izolátu indikuje hustota  $\geq 10^5$  CFU/mL infekci, hustota  $< 10^5$  CFU/mL kontaminaci v močové trubici nebo pochvě a při hustotě  $10^4$  až  $10^5$  CFU/mL je nutno provést přehodnocení na základě klinických informací.<sup>8-11</sup>

Moč odebraná suprapubickou punkcí močového měchýře: Jelikož močový měchýř neinfikovaných jedinců je sterilní, indikuje infekci libovolný počet CFU.

Patogeny močového traktu obvykle produkují vysoké počty se stejnou morfologií kolonií a kontaminující bakterie se obvykle objevují v malém počtu s různou morfologií kolonií.

CLED Agar umožňuje růst gram-pozitivních a gram-negativních bakterií, na agaru MacConkey II Agar jsou gram-pozitivní bakterie částečně nebo zcela inhibovány.

Růst na médiu MacConkey II Agar poukazuje na přítomnost gram-negativních tyčinek, např. z čeledi *Enterobacteriaceae* (jako *E. coli* a mnohé jiné).

CLED a MacConkey II Agar umožňují pouze předběžnou diferenciaci kolonií na základě fermentace laktózy. Ke kompletní identifikaci a stanovení antibiotické citlivosti je nutné provést další testy.<sup>10-12</sup>

Typická morfologie kolonií na agaru **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** je následující:

| Organismy                               | CLED Agar                                                                  | MacConkey II Agar                                          |
|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i>                 | Žluté kolonie, neprůhledné, žluté médium                                   | Růst, růžové kolonie                                       |
| <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> | Žluté až bílomodré kolonie, často slizovité, nažloutlé médium              | Slizovité, růžové kolonie                                  |
| <i>Proteus</i>                          | Průhledné modré kolonie, modrozelené až modré médium                       | Růst, bezbarvé až béžové kolonie, inhibice plazivého růstu |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>           | Zelené kolonie s typickým matným povrchem a nerovnými okraji, modré médium | Nepravidelné, bezbarvé až růžové kolonie                   |
| Enterokoky                              | Malé žluté kolonie, žluté médium                                           | Částečná až úplná inhibice                                 |
| <i>Staphylococcus aureus</i>            | Syté žluté kolonie, jednotné barvy, žluté médium                           | Částečná až úplná inhibice                                 |
| Koaguláza negativní stafylokok          | Světle žluté kolonie, méně průhledné než u enterokoků                      | Částečná až úplná inhibice                                 |

## SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A OMEZENÍ POSTUPU

CLED Agar je vhodný pro izolaci a stanovení množství mnoha aerobně rostoucích mikroorganismů, např. z čeledí *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* a dalších nefermentujících gram-negativních tyčinek, enterokoků, stafylokoků, rodů *Candida* a mnoha dalších bakterií ze vzorků moči.

Streptokoky a další organismy vyžadující ke svému růstu krev nebo sérum lze na tomto médiu zjistit nedostatečně nebo pro ně může být nutná delší inkubace. Předpokládá-li se přítomnost takových organismů, je nutno vzorky kultivovat také na miskách s krevním agarem.

Urogenitální patogeny, např. *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* nebo jiné náročné organismy, na tomto médiu nerostou. Vhodné techniky pro zjišťování těchto organismů naleznete v odkazech.<sup>9,10,12</sup>

Ačkoli rozlišení podle fermentace laktózy a některé další diagnostické testy mohou být na tomto médiu prováděny přímo, k provedení úplné identifikace je nutné biochemické a, je-li indikováno, také imunologické testování pomocí čistých kultur.<sup>10-12</sup>

MacConkey II Agar je jedno ze standardních médií používaných pro primární aplikaci naisky u klinických vzorků a nejrůznějších neklinických materiálů. Na tomto médiu rostou všechny organismy čeledi *Enterobacteriaceae* a mnoho dalších gram-negativních tyčinek, např. *Pseudomonas* a blízké druhy. Nefermentující mikroorganismy porostou na tomto médiu, pokud jsou rezistentní na jeho selektivní složky. Před použitím média pro konkrétní organismus nahlédněte do příslušných kapitol v odkazech.<sup>8,10</sup>

Bylo hlášeno, že některé druhy *Enterobacteriaceae* a *Pseudomonas aeruginosa* jsou inhibovány na MacConkeyho agaru při inkubaci v atmosféře obohacené CO<sub>2</sub>.<sup>13</sup>

Ačkoli některé diagnostické testy mohou být na tomto médiu prováděny přímo, k provedení úplné identifikace je nutné biochemické a, je-li indikováno, také imunologické testování pomocí čistých kultur. Podívejte se na příslušné odkazy.<sup>8,10,12</sup>

## ODKAZY

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: CO<sub>2</sub> vs. ambient incubation, abstr. C 179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.

## **BALENÍ/DOSTUPNOST**

### **CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)**

Kat. č. 257562

Média na miskách k okamžitému použití, 20 misek

Kat. č. 257680

Média na miskách k okamžitému použití, 120 misek



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 databáze American Type Culture Collection

BD, logo BD a všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Becton, Dickinson and Company.

© 2016 BD

Viz část „References“ (Odkazy) v anglickém textu.

Pouze na předpis

Technický servis a podpora společnosti BD Diagnostics: Obrátte se na místního zástupce společnosti BD.