

BD CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)

NAMJENA

BD CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate) upotrebljava se za mikrobiološku analizu urina. CLED Agar diferencijalna je hranjiva podloga koja se koristi za izolaciju i brojenje bakterija u urinu. MacConkey II Agar selektivna je i diferencijalna podloga za izolaciju i diferencijaciju *enterobakterija* i mnoštvo drugih gram-negativnih sojeva iz kliničkih i nekliničkih uzoraka.

NAČELA I OBJAŠNJENJE POSTUPKA

Mikrobiološka metoda.

CLED Agar: 1960. godine Sandys je izvijestio o razvoju nove metode sprječavanja množenja bakterije *Proteus* na čvrstoj podlozi ograničavanjem elektrolita na hranjivoj podlozi koja je naknadno nekoliko puta izmijenjena za upotrebu u kulturi urina.¹⁻³ Označena je kao podloga s nedostatkom cistina, laktoze i elektrolita (CLED) te se preporučuje kao idealna za upotrebu u urinarnoj bakteriologiji.

Peptoni i goveđi ekstrakt snabdijevaju podlogu CLED Agar hranjivim tvarima. Laktoza je izvor energije za organizme koji je mogu iskoristiti mehanizmom fermentacije. Bromtimol plavo indikator je pH vrijednosti za diferencijaciju bakterija koje fermentiraju laktozu od onih koje je ne fermentiraju. Organizmi koji fermentiraju laktozu imat će snižene pH vrijednosti i promijenit će boju podloge iz zelene u žutu. Cistin omogućuje rast koliformnih "kolonija nanobakterija".³ Izvori elektrolita smanjeni su da bi se minimaliziralo množenje bakterije vrste *Proteus*.

MacConkey II Agar: jednu od najranijih formula podloge za diferencijaciju *enterobakterija* razvio je MacConkey te je objavio 1900. i 1905. godine.^{4,5} Ta formula temelji se na poznavanju činjenice da se žučne soli talože uslijed djelovanja kiselina, a da određeni enterični mikroorganizmi fermentiraju laktozu, dok drugi nemaju tu sposobnost. Ta je podloga naknadno izmijenjena nekoliko puta.^{6,7}

Podloga MacConkey Agar samo je blago selektivna budući da je koncentracija žučnih soli koje inhibiraju gram-pozitivne mikroorganizme niska u usporedbi s drugim enteričnim podlogama u petrijevim zdjelicama. Ova podloga preporučuje se za upotrebu s kliničkim uzorcima za koje se pretpostavlja da sadrže miješanu mikrobnu floru, kao što su urin i mnogi drugi uzorci, zbog toga što omogućuje preliminarno grupiranje *enterobakterija* i drugih gram-negativnih sojeva u one koji fermentiraju laktozu i u one koji je ne fermentiraju.⁷⁻¹⁰

Formula podloge MacConkey II Agar osmišljena je da poboljša inhibiciju množenja vrsta *Proteus* radi dobivanja bolje diferencijacije na one bakterije koje fermentiraju laktozu i one koje je ne fermentiraju i za izrazit rast.

Peptoni snabdijevaju podlogu MacConkey II Agar hranjivim tvarima. Kristalno ljubičasta boja inhibira gram-pozitivne bakterije, osobito enterokoke i stafilokoke. Diferencijacija enteričnih mikroorganizama postiže se kombinacijom laktoze i neutralnog crvenog pH indikatora. Stvaraju se bezbojne ili ružičaste do crvene kolonije, ovisno o sposobnosti izolata da fermentira ugljikohidrate.

Prisutnost podloga CLED Agar i MacConkey II Agar u toj petrijevoj zdjelici s dva dijela omogućuje određivanje ukupnog broja i izolaciju gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija iz uzoraka urina.

REAGENSI

CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)

Formula* po litri pročišćene vode

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Pankreatična digestija želatine	4,0 g	Pankreatična digestija želatine	17,0 g
Pankreatična digestija kazeina	4,0	Pankreatična digestija kazeina	1,5
Goveđi ekstrakt	3,0	Peptična digestija životinjskog tkiva	1,5
Laktoza	10,0	Laktoza	10,0
L-Cistin	0,128	Žučne soli	1,5
Bromtimol plavo	0,02	Natrijev klorid	5,0
Agar	15,0	Neutralna crvena boja	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Kristalno ljubičasta boja	0,001
		Agar	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

MJERE OPREZA

Za in vitro dijagnostičku upotrebu **IVD**. Samo za profesionalnu primjenu. 
Ne upotrebljavajte petrijeve zdjelice ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikrobima, promjene boje, sušenja, pucanja ili ostali znakovi pogoršanja kvalitete.

POHRANJIVANJE I ROK VALJANOSTI

Po primitku pohranite petrijeve zdjelice na tamnom mjestu pri temperaturi od 2 do 8 °C u originalnom pakiranju do trenutka upotrebe. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Petrijeve zdjelice mogu se inokulirati do datuma isteka valjanosti (pogledajte naljepnicu na pakiranju) te inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije. Petrijeve zdjelice iz otvorenih pakiranja po 10 petrijevih zdjelica mogu se koristiti tjedan dana ako se čuvaju na čistom mjestu pri temperaturi od 2 do 8 °C.

KORISNIČKA KONTROLA KVALITETE

Inokulirajte reprezentativne uzorke sa sljedećim sojevima (detalje potražite u dokumentu **OPĆE UPUTE ZA UPOTREBU**). Inkubirajte petrijeve zdjelice pri temperaturi od 35 °C ± 2 °C u aerobnoj atmosferi.

Petrijeve zdjelice pregledavajte svakih 18 do 24 sata i pratite rast, pigmentaciju, veličinu kolonija i inhibiciju množenja/širenja bakterije *Proteus*.

Sojevi	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Rast; žute kolonije, žuta podloga	Rast; ružičaste kolonije
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Rast; bezbojne do plave kolonije; množenje inhibirano; neznatno širenje prihvatljivo	Rast; bezbojne do bež kolonije, množenje inhibirano
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Rast; bezbojne do žute kolonije; žuta podloga	Djelomična do potpuna inhibicija
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Rast; male, žute kolonije; žuta podloga	Djelomična do potpuna inhibicija
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Rast; male, bijele do žućkaste kolonije; žuta podloga	Djelomična do potpuna inhibicija
Nije inokulirano	Zelene do plavozelene	Svijetlo ružičasta boja, blago svjetlucavo

POSTUPAK

Priloženi materijal

BD CLED Agar/MacConkey II Agar (90 mm, s dva dijela). Mikrobiološki kontrolirano.

Materijal koji nije priložen

Dodatne hranjive podloge, reagensi i laboratorijska oprema prema potrebi.

Vrste uzoraka i prikupljanje uzoraka

Ta se podloga koristi samo za brojenje i diferencijaciju bakterija u urinu. Može se koristiti uzorak urina srednjeg mlaza ili iz katetera ili urin prikupljen suprapubičnom punkcijom mjehura (pogledajte i **RADNA SVOJSTVA I OGRANIČENJA POSTUPKA**). Primjenjujte aseptične tehnike za prikupljanje uzoraka urina. Urin treba izravno nanijeti na podlogu u roku od maksimalno 2 sata nakon prikupljanja ili ga treba pohraniti u hladnjak (ne duže od 24 sata) kako bi se spriječio pretjerani rast infekcijskih agensa ili kontaminata prije inokulacije podloge.⁸⁻¹¹

Postupak ispitivanja

Prikupite uzorak nerazrijeđenog, dobro izmiješanog urina kalibriranom ušicom (0,01 ili 0,001 mL) za svaku od dvije podloge u petrijevoj zdjelici s dva dijela. Pazite na ispravno punjenje uzorka u ušicu. Prvo nanosite uzorak urina na podlogu CLED Agar, a zatim drugi uzorak nanosite na podlogu MacConkey II Agar. Inkubirajte petrijeve zdjelice aerobno pri temperaturi $35 \pm 2^\circ\text{C}$ od 24 do 48 sati. Ne inkubirajte u aerobnoj atmosferi obogaćenoj s CO_2 !

Računanje i interpretacija rezultata

Prebrojite broj kolonija (CFU) u petrijevoj zdjelici. Ako ste koristili ušicu od 0,01 mL, svaka kolonija predstavlja 100 CFU/mL; ako ste koristili ušicu od 0,001 mL, svaka kolonija odgovara 1000 CFU/mL urina.⁸

Urin srednjeg mlaza i iz katetera: trenutačne smjernice ukazuju da za jedan izolat gustoća od $\geq 10^5$ CFU/mL ukazuje na infekciju, $<10^5$ CFU/mL ukazuje na uretralnu ili vaginalnu kontaminaciju, a ako je gustoća između 10^4 i 10^5 CFU/mL, treba provesti ponovnu evaluaciju na temelju kliničkih informacija.⁸⁻¹¹

Urin koji se prikuplja suprapubičnom punkcijom mjehura: budući da je mjehur sterilan kod pojedinaca bez infekcije, svaki otkriveni CFU ukazuje na infekciju.

Patogeni iz urinarnog trakta obično će dostići velik broj s istovrsnom morfologijom kolonije, dok se kontaminirane bakterije obično pojavljuju u malom broju, a morfologija kolonija je različita.

CLED Agar omogućuje rast gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija, dok je rast gram-pozitivnih bakterija djelomično do potpuno inhibiran na podlozi MacConkey II Agar.

Rast na podlozi MacConkey II Agar ukazuje na prisutnost gram-negativnih sojeva, npr. *enterobakterija* (poput *E. coli* i mnogih drugih).

Podloge CLED i MacConkey II Agar omogućuju samo vjerojatnu diferencijaciju kolonija s obzirom na fermentaciju laktoze. Za potpunu identifikaciju i određivanje antimikrobne osjetljivosti moraju se provesti dodatna ispitivanja.¹⁰⁻¹²

Uobičajena je morfologija kolonija na **BD CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)** sljedeća:

Organizmi	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Žute kolonije, neprozirno; žuta podloga	Rast; ružičaste kolonije
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Žute do bijeloplave kolonije, često mukoidne; žućkasta podloga	Mukoidne, ružičaste kolonije
<i>Proteus</i>	Prozirne plave kolonije; plavozelena do plava podloga	Rast; bezbojne do bež kolonije, množenje inhibirano
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Zelene kolonije, obično mutne površine i neravnih rubova; plava podloga	Nepravilne, bezbojne do ružičaste kolonije
Enterococci	Male žute kolonije, žuta podloga	Djelomična do potpuna inhibicija
<i>Staphylococcus aureus</i>	Tamnožute kolonije, jednake boje; žuta podloga	Djelomična do potpuna inhibicija
Stafilokoki negativni na koagulazu	Svijetlo žute kolonije, neprozirne od enterokoka	Djelomična do potpuna inhibicija

RADNA SVOJSTVA I OGRANIČENJA POSTUPKA

CLED Agar pogodan je za izolaciju i brojanje mnogih aerobno rastućih mikroorganizama, kao što su *enterobakterije*, *Pseudomonas* i drugi nefermentirajući gram-negativni sojevi, enterokoki, stafilocoki, vrste *Candida* i mnogi drugi iz urinskog uzorka.

Streptokoki i drugi organizmi kojima je za rast potrebna krv ili serum na ovoj se podlozi mogu tek nedostavno uzgajati ili im je potrebna produljena inkubacija. Ako se očekuje prisutnost tih organizama, uzorak se mora kultivirati i u petrijevoj zdjelici s krvnim agarom.

Genitourinarni patogeni, poput bakterija *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* ili drugi izbirljivi organizmi ne rastu na toj podlozi. U referencama potražite odgovarajuće tehnike za otkrivanje tih organizama.^{9, 10, 12}

Iako se diferencijacija putem fermentacije laktoze i određeni broj dijagnostičkih ispitivanja mogu izvesti izravno na podlozi, za potpunu identifikaciju potrebna su biokemijska i, ako je tako navedeno, imunološka ispitivanja s čistim kulturama.^{10 – 12}

MacConkey II Agar jedna je od standardnih podloga koje se koriste za primarnu izolaciju kliničkih uzoraka i za mnoštvo nekliničkih materijala. Na ovoj će podlozi rasti svi organizmi vrste *enterobakterija* i mnoštvo drugih gram-negativnih sojeva, npr. bakterije *Pseudomonas* i srodni rodovi. Na ovoj podlozi mogu rasti bakterije koje ne fermentiraju, i to ako pokazuju rezistentnost na selektivne sastojke. Pogledajte odgovarajuća poglavlja u referencama prije korištenja podloge za određene organizme.^{8, 10}

U izvješćima stoji da je rast nekih *enterobakterija* i *Pseudomonas aeruginosa* na podlozi MacConkey Agar inhibiran ako se inkubiraju u atmosferi obogaćenoj s CO₂.¹³

Iako se određeni broj dijagnostičkih ispitivanja može napraviti direktno na podlozi, za potpunu identifikaciju potrebna su biokemijska i, ako je tako navedeno, imunološka ispitivanja s čistom kulturom. Pogledajte odgovarajuće reference.^{8, 10, 12}

REFERENCE

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 Leitfad. 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.

AMBALAŽA/DOSTUPNOST

CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)

Kat. br. 257562

Podloge u petrijevim zdjelicama spremne za upotrebu, 20
petrijevih zdjelica

Kat. br. 257680

Podloge u petrijevim zdjelicama spremne za upotrebu, 120
petrijevih zdjelica



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 zaštitni znak organizacije American Type Culture Collection

BD, logotip BD i svi drugi zaštitni znakovi u vlasništvu su tvrtke Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD

Pogledajte "Reference" u tekstu na engleskom jeziku.

Samo uz recept

Tehnička služba i podrška tvrtke BD Diagnostics: obratite se lokalnom predstavniku tvrtke BD.