

BD CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)

BRUKSOMRÅDE

BD CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate) brukes til mikrobiologiske urinalyser. CLED Agar er et differensierende kulturmedium for bruk ved isolering og kvantitering av bakterier i urin. MacConkey II Agar er et selektivt og differensierende medium for isolering og differensiering av *Enterobacteriaceae* og et utvalg av andre gramnegative staver fra kliniske og ikke-kliniske prøver.

PRINSIPPER FOR OG FORKLARING AV PROSEDYREN

Mikrobiologisk metode.

CLED Agar: I 1960 rapporterte Sandys på utviklingen av en ny fremgangsmåte for å hindre utbredelse av *Proteus* på fast medium ved å begrense elektrolytter i kulturmediet som ble modifisert flere ganger senere for bruk i urinkultur.¹⁻³ Det ble utpekt som mediet Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient (CLED) og rapportert å være ideelt for urinfaktologi. I CLED Agar er det peptoner og storfeekstrakt som gir næringsstoffer. Laktose er en energikilde for organismer som er i stand til å benytte den ved en fermenterbar mekanisme. Bromtymolblå er en pH-indikator for å differensiere laktosefermentatorer fra laktose-ikke-fermentatorer. Organismer som fermenter laktose, vil senke pH-verdien og endre fargen av mediet fra grønn til gul. Cystin muliggjør veksten av en "dvergkoloni" av koliforme bakterier.³ Elektrolyttkilder er redusert for å minimalisere utbredelse av *Proteus*-arter.

MacConkey II Agar: En av de tidligste medieformlene for differensieringen av *Enterobacteriaceae* ble utviklet av MacConkey og ble publisert i 1900 og 1905.^{4,5} Denne formuleringen ble utviklet med den kunnskapen at gallesalter blir utskilt av syrer og visse enteriske mikroorganismer fermenter laktose, mens andre ikke har denne egenskapen. Senere ble dette mediet modifisert flere ganger.^{6,7}

MacConkey Agar er bare lett selektivt, siden konsentrasjonen av gallesalter, som hemmer grampositive mikroorganismer, er lav i sammenligning med andre enteriske skålmedier. Dette mediet anbefales for bruk med kliniske prøver som det er sannsynlig at inneholder blandet mikrobiell flora, som urin og mange andre, fordi det tillater en preliminær gruppering av *Enterobacteriaceae* og andre gramnegative staver i laktosefermentatorer og laktose-ikke-fermentatorer.⁷⁻¹⁰

MacConkey II Agar-formuleringen ble utformet for å forbedre hemmingen av utbredelsen av *Proteus*-arter for å oppnå mer effektiv differensiering av laktosefermentatorer og ikke-fermentatorer og bedre vekst.

I MacConkey II Agar er det peptoner som gir næringsstoffer. Krystallfiolett hemmer grampositive bakterier, spesielt enterokokker og stafylokokker. Differensiering av enteriske mikroorganismer oppnås ved kombinasjonen av laktose og den nøytrale røde pH-indikatoren. Det produseres fargeløse eller rosa til røde kolonier avhengig av egenskapen til isolatet til å fermentere karbohydratet.

Tilstedeværelsen av CLED og MacConkey II Agar i denne biplaten muliggjør bestemmelsen av det totale antallet og isoleringen av grampositive og gramnegative bakterier i urinprøver.

REAGENSER

CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)

Sammensetning* per liter renset vann

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Fordøyelse av gelatin i pankreas	4,0 g	Fordøyelse av gelatin i pankreas	17,0 g
Fordøyelse av kasein i pankreas	4.0	Fordøyelse av kasein i pankreas	1.5
Storfeekstrakt	3.0	Peptisk fordøyelse av dyrevev	1.5
Laktose	10.0	Laktose	10.0
L-cystin	0.128	Gallesalter	1.5
Bromtymolblå	0.02	Natriumklorid	5.0
Agar	15.0	Nøytral rød	0.03
pH 7,3 ± 0,2		Krystallfiolett	0.001
		Agar	13.5
		pH 7,1 ± 0,2	

*Justert og/eller supplert etter behov for å oppfylle ytelseskriteriene.

FORSIKTIGHETSREGLER

Til in vitro-diagnostisk bruk **IVD**. Kun til profesjonell bruk. Ⓢ

Skålene må ikke brukes hvis de viser tegn på mikrobiell kontaminering, misfarging, uttørring, sprekkdannelse eller har andre tegn til forringelse.

OPPBEVARING OG HOLDBARHET

Etter mottak skal skålene oppbevares mørkt ved 2 – 8 °C i originalinnpakningen inntil like før de skal brukes. Unngå frysing og overoppheting. Agarskålene kan inokuleres frem til utløpsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalte inkubasjonsperiodene.

Agarskåler fra åpnete stabler på 10 skåler kan brukes i én uke når de oppbevares på et rent sted med en temperatur på 2 – 8 °C.

KVALITETSKONTROLL FOR BRUKERE

Inokuler representative prøver med følgende stammer (for mer informasjon, se dokumentet **GENERELL BRUKSANVISNING**). Inkuber skålene ved 35 ± 2 °C i en aerob atmosfære.

Undersøk skålene etter 18 til 24 timer med henblikk på vekst, pigmentering, kolonistørrelse og hemming av utbredelse/spredning av *Proteus*.

Stammer	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Vekst – gule kolonier, middels gule	Vekst – rosa kolonier
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Vekst – fargeløse mot blå kolonier, utbredelse hemmet, liten spredning tillatt	Vekst – fargeløse mot beige kolonier, utbredelse hemmet
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Vekst – fargeløse til gule kolonier, middels gule	Delvis til fullstendig hemming
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Vekst – små kolonier, gule, middels gule	Delvis til fullstendig hemming
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Vekst – små kolonier, hvite mot gulaktige, middels gule	Delvis til fullstendig hemming
Ikke-inokulert	Grønn til blågrønn	Lys rosa, svakt opaliserende

PROSEDYRE

Materialer som følger med

BD CLED Agar/MacConkey II Agar (90 mm Biplater). Mikrobiologisk kontrollert.

Materialer som ikke følger med

Supplerende vekstmedier, reagenser og laboratorieutstyr etter behov.

Prøvetyper og innsamling av prøver

Dette mediet brukes utelukkende til kvantitering og differensiering av bakterier i urin. Midtstrøms- eller kateterurin, eller urin som er hentet ved suprapubisk blærepunksjon kan brukes (se også **EGENSKAPER VED UTFØRELSEN OG BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN**). Vær nøye med aseptiske teknikker ved innsamling av urinprøver. Urinen må strykes direkte på mediet før det har gått 2 timer siden innsamlingen, ellers må den kjøles ned (ikke lenger enn 24 timer) for å unngå overvekst av smittefarlige stoffer eller forurensninger før inokulering av dette mediet.⁸⁻¹¹

Testprosedyre

Samle inn en prøve av ufortynnet urin som er godt blandet med en kalibrert øse (0,01 eller 0,001 mL) for hver av de to mediene i denne biplaten. Sørg for korrekt innhenting av prøven med øsen. Stryk først en prøve av urinen på CLED Agar, så den andre prøven på MacConkey II Agar. Inkuber skålene aerobt ved 35 ± 2 °C i 24 til 48 tm. Ikke inkuber i en CO₂-beriket aerob atmosfære!

Beregning og Tolkning av resultatene

Tell antallet kolonier (CFU) på skålen. Hvis det ble brukt en øse på 0,01 mL, er hver resultatkoloni representativ for 100 CFU/mL. Hvis det ble brukt en øse på 0,001 mL, er hver koloni representativ for 1000 CFU/mL med urin.⁸

Midtstrøms- og kateterurin: Gjeldende retningslinjer indikerer at for ett enkelt isolat, vil en tetthet på $\geq 10^5$ CFU/mL indikere infeksjon, $<10^5$ CFU/mL vil indikere forurensning fra urinrør eller vagina, og en tetthet mellom 10^4 til 10^5 CFU/mL vil måtte evalueres på nytt, basert på klinisk informasjon.⁸⁻¹¹

Urin som er innsamlet ved suprapubisk blærepunksjon: Siden blæren er steril hos ikke-infiserte individer, vil ethvert funn av CFU indikere en infeksjon.

Urinveispatogener vil vanligvis vise høye tall med uniform kolonimorfologi, mens forurensede bakterier vanligvis vil vise lave tall som varierer i kolonimorfologi.

Mens CLED Agar tillater vekst av grampositive og gramnegative bakterier, vil grampositive og gramnegative bakterier hemmes delvis til fullstendig på MacConkey II Agar.

Vekst på MacConkey II Agar-mediet indikerer forekomst av gramnegative staver, f.eks.

Enterobacteriaceae (som *E. coli* og mange andre).

CLED og MacConkey II Agar muliggjør kun presumptiv differensiering av kolonier i henhold til laktosefermentering. For en fullstendig identifisering og fastsetting av den antimikrobielle følsomhetstesten, må ytterligere tester også utføres.¹⁰⁻¹²

Typisk koloni-morfologi på **BD CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)**er som følger:

Organismer	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Gule kolonier, ugjennomskinnelige, middels gule	Vekst – rosa kolonier
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Gule mot hvitaktige blå kolonier, ofte mukoide, middels gulaktig	Mukoide, rosa kolonier
<i>Proteus</i>	Gjennomskinnelige, blå kolonier, blågrønne mot middels blå	Vekst – fargeløse mot beige kolonier, utbredelse hemmet
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Grønne kolonier med typisk matt overflate og grov periferi, middels blå	Uregelmessige, fargeløse mot rosa kolonier
Enterokokker	Små, gule kolonier, middels gule	Delvis til fullstendig hemming
<i>Staphylococcus aureus</i>	Mørkegule kolonier, uniform i farge, middels gule	Delvis til fullstendig hemming
Koagulasenegative stafylokokker	Bleke, gule kolonier, mer ugjennomskinnelige enn enterokokker	Delvis til fullstendig hemming

EGENSKAPER VED UTFØRELSEN OG BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN

CLED Agar passer for isolering og kvantitering av mange mikroorganismer som vokser aerobt, som *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* og andre ikke-fermenterende, gramnegative staver, enterokokker, stafylokokker *Candida*-arter, og mange andre fra urinprøver.

Streptokokker og andre organismer som krever blod eller serum for å vokse, kan kun bli utilstrekkelig gjenfunnet på dette mediet, eller kan trenge lengre inkubasjon. Derfor bør prøven også kultiveres på en blodagarskål hvis det forventes slike organismer.

Urogenitalpatogener som *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma*, eller andre krevende organismer, vokser ikke på dette mediet. Se referansene for de passende påvisningsteknikkene for disse organismene.^{9,10,12}

Selv om en differensiering ifølge laktosefermentering og visse diagnostiske tester kan utføres direkte på dette mediet, er det nødvendig med biokjemisk og, om angitt, immunologiske tester ved hjelp av rene kulturer, for fullstendig identifisering.¹⁰⁻¹²

MacConkey II Agar er en av de vanligste medier som benyttes for primær plating av kliniske prøver og for en rekke ikke-kliniske materialer. På dette mediet, vil alle organismer i familien *Enterobacteriaceae* og en rekke andre gramnegative staver som f.eks. *Pseudomonas* og relaterte slekter, vokse. Ikke-fermentatorer vokser på dette mediet hvis de er motstandsdyktige mot dens selektive ingredienser. Se de respektive kapitlene i referansene før du bruker mediet for bestemte organismer.^{8,10}

Det har blitt rapportert at noen *Enterobacteriaceae* og *Pseudomonas aeruginosa* er hemmet på MacConkey Agar når de inkuberes i en CO₂-beriket atmosfære.¹³

Selv om visse diagnostiske tester kan utføres direkte på dette mediet, er det nødvendig med biokjemisk og, om angitt, immunologiske tester ved hjelp av rene kulturer, for fullstendig identifisering. Se de riktige referansene.^{8,10,12}

REFERANSER

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.

FORPAKNING/TILGJENGELIGHET

CLED Agar/MacConkey II Agar (Biplate)

Kat. nr. 257562

Ferdiglagde agarskåler, 20 skåler

Kat. nr. 257562

Ferdiglagde agarskåler, 120 skåler



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 er et varemerke for American Type Culture Collection

BD, BD-logoen og alle andre varemerker tilhører Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD

Se "Referanser" i den engelsk teksten.

Kun Rx

Teknisk service og -støtte for BD Diagnostics: Ta kontakt med lokal BD-representant.