



BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

UTILIZARE SPECIFICĂ

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) este utilizat pentru analiza microbiologică a urinei. CLED Agar este un mediu de cultură diferențial utilizat la izolarea și enumerarea bacteriilor din urină. MacConkey II Agar este un mediu selectiv și diferențial pentru izolarea și diferențierea familiei *Enterobacteriaceae* și a altor bacili gram negativi din probele clinice și non-clinice.

PRINCIPIILE ȘI EXPLICAREA PROCEDURII

Metodă microbiologică.

CLED Agar: În 1960, Sandys a elaborat un raport privind dezvoltarea unei noi metode de prevenire a acumulării de *Proteus* în medii solide, limitând cantitatea de electroliți în mediul de cultură care a fost modificat ulterior de mai multe ori pentru utilizarea în urocultură.¹⁻³ Acesta a fost denumit mediu Cistină-Lactoză-Electrolit Deficient (CLED) și a fost raportat ca fiind ideal pentru tehnici de inoculare prin înmuiere și pentru bacteriologia urinară în general. În CLED Agar, peptonele și extractul de vită furnizează substanțele nutritive. Lactoza este o sursă de energie pentru organismele capabile să o utilizeze printr-un mecanism de fermentație. Albastru de bromtimol este un indicator pH pentru diferențierea organismelor care asigură fermentația lactozei de organismele care inhibă fermentația lactozei. Organismele care asigură fermentația lactozei reduc valoarea pH și schimbă culoarea mediului de la verde la galben. Cistina permite creșterea „coloniilor pitice” de bacterii coliforme.³ Sursele de electrolit sunt reduse pentru a minimiza acumularea de specii *Proteus*.

MacConkey II Agar: Unul dintre primele formulări de medii pentru diferențierea familiei *Enterobacteriaceae* a fost realizat de MacConkey și publicat în 1900 și 1905.^{4,5} Această formulare a fost realizată cunoscând faptul că sărurile biliare sunt precipitate de acizi și anumite microorganisme enterice fermentează lactoza în timp ce altele nu au această proprietate. Mai târziu, acest mediu a fost modificat de mai multe ori.^{6,7} MacConkey Agar este slab selectiv datorită concentrației scăzute de săruri biliare, ce inhibă microorganismele gram pozitive, în comparație cu alte medii enterice pe plăci. Se recomandă utilizarea acestui mediu cu probele clinice având probabilitate mare de a conține floră microbiană mixtă, precum probele de urină și multe altele, deoarece permite o grupare preliminară a familiei *Enterobacteriaceae* și a altor bacterii gram negative în bacterii care fermentează lactoza și bacterii care nu fermentează lactoza.⁷⁻¹⁰

Mediul MacConkey II Agar a fost proiectat pentru a îmbunătăți inhibarea procesului de invazie a speciilor *Proteus*, pentru a realiza o diferențiere mai bună a bacteriilor care fermentează lactoza de cele care nu fermentează lactoza și pentru o creștere mai bună.

În mediul MacConkey II Agar, peptonele furnizează substanțele nutritive. Cristalul violet inhibă bacteriile gram pozitive, în special enterococii și stafilococii. Diferențierea microorganismelor enterice este realizată prin combinarea lactozei cu indicatorul de pH roșu neutru. Coloniile incolore sau roz spre roșu sunt produse în funcție de proprietatea izolatului de a fermenta carbohidratul.

Prezența mediilor CLED și MacConkey II Agar pe această placă dublă permite determinarea numărului total și a izolării bacteriilor gram pozitive și gram negative din probele de urină.

REACTIVI

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Formulă* pentru un litru de apă purificată

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Extract pancreatic de gelatină	4,0 g	Extract pancreatic de gelatină	17,0 g
Extract pancreatic de cazeină	4,0	Extract pancreatic de cazeină	1,5
Extract de vită	3,0	Extract peptic de țesut de origine animală	1,5
Lactoză	10,0	Lactoză	10,0
L-cistină	0,128	Săruri biliare	1,5
Albastru de bromtimol	0,02	Clorură de sodiu	5,0
Agar	15,0	Roșu neutru	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Cristal violet	0,001
		Agar	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

*Ajustată și/sau suplimentată după cum este necesar pentru a îndeplini criteriile de performanță.

PRECAUȚII

În scopul diagnosticului in vitro **IVD**. Numai pentru uz profesional. ⓧ

Nu utilizați plăcile dacă prezintă semne de contaminare microbiană, decolorare, deshidratare, fisuri sau alte semne de deteriorare.

DEPOZITARE ȘI DURATA DE DEPOZITARE

La recepție, depozitați plăcile la întuneric la 2 până la 8 °C, în ambalajul original până în momentul utilizării. Evitați congelarea și supraîncălzirea. Plăcile pot fi inoculate până la expirarea termenului de valabilitate (consultați eticheta ambalajului) și pot fi incubate pentru perioadele recomandate de incubare.

Plăcile dintr-o stivă de 10 plăci desfăcută pot fi utilizate timp de o săptămână, dacă sunt depozitate într-o zonă curată, la o temperatură cuprinsă între 2 și 8 °C.

CONTROLUL CALITĂȚII EFECTUAT DE UTILIZATOR

Inoculați probele reprezentative cu următoarele tulpini (pentru informații suplimentare, consultați documentul **INSTRUCȚIUNI GENERALE DE UTILIZARE**). Incubați plăcile la 35 ± 2 °C în atmosferă aerobă.

Examinați plăcile după 18 până la 24 h pentru a observa gradul de creștere, pigmentarea, dimensiunea coloniilor, și inhibarea acumulării/extinderii *Proteus*.

Tulpini	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Creștere; colonii galbene, mediu galben	Creștere; colonii roz
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Creștere; colonii incolore spre albastre; acumulare inhibată, o ușoară extindere este acceptabilă	Creștere; colonii incolore spre bej, proces de invazie inhibat
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Creștere; colonii incolore spre galbene; mediu galben	Inhibare parțială spre completă
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Creștere; colonii mici, galbene; mediu galben	Inhibare parțială spre completă
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Creștere; colonii mici, alb - gălbui; mediu galben	Inhibare parțială spre completă
Neinoculat	Verde spre verde-albăstrui	Roz deschis, ușor opalescente

PROCEDURA

Materiale furnizate

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (plăci duble de 90 mm). Controlate microbiologic.

Materiale nefurnizate

Medii de cultură auxiliare, reactivi și echipamentul de laborator necesar.

Tipuri de probe și colectarea probelor

Acest mediu este utilizat exclusiv pentru enumerarea și diferențierea bacteriilor din urină. Poate fi utilizată urina obținută de la mijlocul jetului, prin cateterizare sau prin puncție suprapubiană (consultați și **CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII**).

Respectați tehnicile aseptice de colectare a probelor de urină. Trebuie efectuate striatii cu urină direct pe mediu, nu mai târziu de 2 ore de la colectare, sau urina trebuie păstrată refrigerată (nu mai mult de 24 de ore) pentru a evita creșterea și dezvoltarea agenților infecțioși și a contaminanților înainte de inocularea pe acest mediu.⁸⁻¹¹

Procedura de testare

Recoltați un eșantion de urină nediluată, bine amestecată, utilizând o ansă calibrată (0,01 sau 0,001 mL) pentru fiecare dintre cele două medii ale acestei plăci duble. Asigurați-vă de încărcarea corespunzătoare a ansei cu probă. Mai întâi, prelevați o probă de urină pe CLED Agar, apoi a doua probă pe MacConkey II Agar. Incubați plăcile într-o atmosferă aerobă la 35 ± 2 °C timp de 24 până la 48 de ore. Nu incubați într-o atmosferă aerobă îmbogățită cu CO₂!

Calcularea și interpretarea rezultatelor

Numărați coloniile (UFC) de pe placă. Dacă a fost utilizată o ansă de 0,01 mL, fiecare colonie rezultată reprezintă 100 UFC/mL; dacă a fost utilizată o ansă de 0,001 mL, fiecare colonie corespunde la 1.000 UFC/mL de urină.⁸

Urina obținută din mijlocul jetului și cu ajutorul cateterului: Actualmente, se consideră că pentru un singur izolat, o densitate $\geq 10^5$ UFC/mL indică infecție, $<10^5$ UFC/mL indică contaminare uretrală sau vaginală, iar între 10^4 și 10^5 UFC/mL este necesară reevaluarea pe baza informațiilor clinice.⁸⁻¹¹

Urina recoltată prin puncție vezicală suprapubiană: Deoarece vezica este sterilă la subiecții fără infecție, depistarea oricărui indice UFC indică o infecție.

Agenții patogeni din urină stimulează de regulă un număr mare de microorganisme cu morfologie colonială uniformă, în timp ce bacteriile de contaminare apar de obicei în număr mic, iar coloniile prezintă morfologii variate.

În timp ce mediul CLED Agar permite creșterea bacteriilor gram pozitive și gram negative, bacteriile gram pozitive sunt inhibitate parțial spre complet pe mediul MacConkey II Agar.

Creșterea pe mediul MacConkey II Agar indică prezența bacililor gram negativi, de ex., *Enterobacteriaceae* (cum ar fi *E. coli* și multe altele).

Mediile CLED și MacConkey II Agar permit doar o diferențiere prezumtivă a coloniilor pe baza capacității de fermentare a lactozei. Pentru o identificare completă și pentru determinarea sensibilității antimicrobiene, trebuie să se efectueze teste suplimentare.¹⁰⁻¹²

Morfologia tipică a coloniilor pe mediul

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplat) este următoarea:

Organisme	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Colonii galbene, opace; mediu galben	Creștere; colonii roz
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Colonii galbene spre alb-albăstrui, adesea mucoide; mediu gălbui	Colonii mucoide, roz
<i>Proteus</i>	Colonii albastre translucide; mediu albastru-verzui spre albastru	Creștere; colonii incolore spre bej, proces de invazie inhibat
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonii verzi cu suprafață mățuită tipică și margini rugoase; mediu albastru	Colonii neregulate, incolore spre roz
Enterococci	Colonii mici, galbene; mediu galben	Inhibare parțială spre completă
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colonii galben profund, culoare uniformă; mediu galben	Inhibare parțială spre completă
Stafilococi coagulazo-negativi	Colonii galben pal, mai opace decât enterococii	Inhibare parțială spre completă

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII

Mediul CLED Agar este adecvat pentru izolarea multor microorganisme aerobe, cum ar fi *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* și alți bacili gram negativi care nu fermentează, enterococi, stafilococi, specii de *Candida*, precum și numeroase alte microorganisme din probele de urină. Streptococii și alte organisme care necesită sânge sau ser pentru creștere sunt recuperate insuficient pe acest mediu sau necesită incubare prelungită. Prin urmare, proba trebuie să fie, de asemenea, cultivată pe o placă de agar cu sânge atunci când se suspectează prezența unor astfel de organisme.

Agenții patogeni urogenitali cum ar fi *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* sau alte organisme pretențioase nu cresc pe acest mediu. Consultați referințele pentru a afla tehnicile adecvate de detectare a acestor organisme.^{9,10,12}

Deși o diferențiere pe baza capacității de fermentare a lactozei și anumite alte teste de diagnostic pot fi realizate direct pe acest mediu, pentru o identificare completă este necesară testarea biochimică și, dacă este indicat, testarea imunologică utilizând culturi pure.¹⁰⁻¹²

MacConkey II Agar este unul din mediile standard utilizate pentru însămânțarea inițială pe plăci a probelor clinice și pentru numeroase materiale non-clinice. Pe aceste medii, vor crește toate organismele din familia *Enterobacteriaceae* și o varietate de alți bacili gram negativi, precum *Pseudomonas* și genuri înrudite. Bacteriile care nu fermentează cresc în acest mediu dacă sunt rezistente la ingredientele selective. Consultați capitolele respective din referințe înainte de a utiliza mediul pentru organisme specifice.^{8,10}

S-a raportat inhibarea anumitor *Enterobacteriaceae* și *Pseudomonas aeruginosa* în mediul MacConkey Agar atunci când au fost incubate în atmosferă îmbogățită cu CO₂.¹³

Deși anumite teste de diagnostic pot fi realizate direct pe acest mediu, pentru o identificare completă este necesară testarea biochimică și, dacă este indicat, testarea imunologică utilizând culturi pure. Consultați referințele corespunzătoare.^{8,10,12}

REFERINȚE

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. Tenenbaum (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. Tenenbaum (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.

AMBALAJ/DISPONIBILITATE

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Nr. cat. 257562 Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 20 plăci
Nr. cat. 257680 Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 120 plăci



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 este o marcă comercială a American Type Culture Collection
BD, BD Logo și alte mărci comerciale sunt proprietatea Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD

Consultați „References” (Referințe) în textul în limba engleză.

Numai Rx

Asistență și Serviciul tehnic BD Diagnostics: Contactați reprezentantul local BD.