

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

NAMENA

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) koristi se za mikrobiološku analizu urina. CLED Agar je diferencijalna podloga za kulture koja se koristi za izolaciju i brojanje bakterija u urinu. MacConkey II Agar je selektivna i diferencijalna podloga za izolaciju i diferencijaciju bakterija vrste *Enterobacteriaceae* i raznih drugih gram-negativnih bacila iz kliničkih i nekliničkih uzoraka.

PRINCIPI I OBJAŠNJENJE POSTUPKA

Mikrobiološka metoda.

CLED Agar: Godine 1960., Sandys je izvestio o razvoju nove metode sprečavanja množenja bakterije *Proteus* na čvrstoj podlozi ograničavanjem elektrolita na staničnoj podlozi koja je nekoliko puta izmenjena da bi se koristila u urinarnoj kulturi.¹⁻³ Ova metoda je označena kao podloga oskudna u cistinu, laktozi i elektrolitima (Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient, CLED) i smatra se idealnom za upotrebu u urinarnoj bakteriologiji.

Peptoni i goveđi ekstrakt snabdevaju CLED Agar hranljivim materijama. Laktoza predstavlja izvor energije za organizme koji mogu da je iskoriste mehanizmom fermentacije. Bromtimol plavo je indikator pH vrednosti za diferencijaciju bakterija koje fermentišu laktozu od onih koje je ne fermentišu. Organizmi koji fermentišu laktozu imaju sniženu pH vrednost i promeniće boju podloge iz zelene u žutu. Cistin dozvoljava rast „patuljaste kolonije“ koliformnih bakterija.³ Izvori elektrolita se smanjuju kako bi se smanjilo množenje vrste *Proteus*.

MacConkey II Agar: MacConkey je razvio jednu od prvih formulacija podloge za diferencijaciju bakterija vrste *Enterobacteriaceae* i objavio je 1900. i 1905. godine^{4,5} Ova formulacija se zasnivala na saznanju da kiselina taloži žučne soli i određeni enterični mikroorganizmi fermentišu laktozu, dok drugi nemaju tu sposobnost. Ta podloga je kasnije izmenjena nekoliko puta.^{6,7} MacConkey Agar je blago selektivan budući da je koncentracija žučnih soli koje inhibiraju gram-pozitivne mikroorganizme niska u poređenju sa drugim enteričnim pločastim podlogama. Ova podloga se preporučuje za upotrebu sa kliničkim uzorcima za koje se pretpostavlja da sadrže mešanu mikrobnu floru, kao što su urin i mnogi drugi uzorci, zbog toga što omogućava preliminarno grupisanje bakterije *Enterobacteriaceae* i drugih gram-negativnih bakterija u one koje fermentišu laktozu i u one koje je ne fermentišu.⁷⁻¹⁰

Formula MacConkey II Agara osmišljena je da poboljša inhibiciju množenja vrste *Proteus* kako bi se dobila bolja diferencijacija na one bakterije koje fermentišu laktozu i one koje je ne fermentišu i za izraziti rast.

Peptoni snabdevaju MacConkey II Agar hranljivim materijama. Kristalno ljubičasta boja inhibira gram-pozitivne bakterije, posebno enterokoke i stafilokoke. Diferencijacija enteričnih mikroorganizama postiže se kombinacijom laktoze i neutralnog crvenog pH indikatora. Stvaraju se bezbojne ili ružičaste do crvene kolonije, u zavisnosti od sposobnosti izolata da fermentišu ugljene hidrate.

Prisutnost CLED i MacConkey II Agara u toj petrijevoj posudi omogućava određivanje ukupnog broja i izolaciju gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija iz uzoraka urina.

REAGENSI

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Formula* po litru prečišćene vode

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Proizvod pankreasnog varenja žel	4,0 g	Proizvod pankreasnog varenja želatina	17,0 g
Proizvod pankreasnog varenja ka	4,0	Proizvod pankreasnog varenja kaseina	1,5
Goveđi ekstrakt	3,0	Proizvod peptičnog varenja životinjskog	1,5
Laktoza	10,0	Laktoza	10,0
L-cistin	0,128	Žučne soli	1,5
Bromtimol plavo	0,02	Natrijum-hlorid	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	

*Prilagođava se i/ili dopunjava prema potrebi da bi se zadovoljili kriterijumi funkcionisanja.

MERE OPREZA

Za in vitro dijagnostičku upotrebu **IVD**. Samo za profesionalnu upotrebu. 
Ne koristite pločice ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikrobima, promene boje, sušenja, pucanja ili ostali znakovi pogoršanja kvaliteta.

ČUVANJE I VEK TRAJANJA

Po prijemu, pa do trenutka upotrebe, čuvajte pločice na tamnom mestu na temperaturi od 2 do 8°C u originalnom pakovanju. Nemojte zamrzavati ili pregrevati proizvod. Pločice se mogu inokulisati do datuma isteka roka trajanja (pogledajte nalepnicu na pakovanju) i inkubirati onoliko koliko se preporučuje.

Pločice iz otvorenih pakovanja od 10 komada se mogu koristiti nedelju dana ukoliko se čuvaju na čistom mestu na temperaturi od 2 do 8°C.

KORISNIČKA KONTROLA KVALITETA

Inokulišite reprezentativne uzorke sledećim sojevima (pogledajte dokument **OPŠTA UPUTSTVA ZA UPOTREBU** za više informacija). Inkubirajte pločice pri temperaturi od 35°C ± 2°C u aerobnoj atmosferi.

Petrijeve pločice pregledajte svakih 18 do 24 sati 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	Delimična do potpuna inhibicija
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Rast; male, žute kolonije; žuta podloga	Delimična do potpuna inhibicija
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Rast; male, bele do žućkaste kolonije; žuta podloga	Delimična do potpuna inhibicija
Nije inokulisana	Zelene do plavozelene	Svetlo ružičasta boja, blago svetlucavo

POSTUPAK

Obezbeđeni materijal

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (90 mm Biplates). Mikrobiološki kontrolisano.

Materijal koji nije obezbeđen

Podloge za dodatne kulture, reagensi i laboratorijska oprema prema potrebi.

Vrste uzoraka i prikupljanje uzoraka

Ova podloga se koristi samo za brojanje i diferencijaciju bakterija u urinu. Može se koristiti uzorak urina srednjeg mlaza ili iz katetera, ili urin prikupljen suprapubičnom punkcijom mehura (pogledajte i odeljak **RADNA SVOJSTVA I OGRANIČENJA POSTUPKA**). Primenujte aseptične tehnike za prikupljanje uzoraka urina. Urin treba naneti direktno na podlogu u roku od najviše 2 sata nakon prikupljanja ili ga treba staviti u hladnjak (ne duže od 24 sata) kako bi se sprečio preterani rast infekcijskih agensa ili kontaminanata pre inokulacije podloge.⁸⁻¹¹

Postupak ispitivanja

Prikupite uzorak nerazređenog, dobro izmešanog urina kalibriranom petljom (0,01 ili 0,001 mL) za svaku od dve podloge na petrijevoj posudi sa dva dela. Vodite računa da ispravno puniti uzorke u petlju. Prvo nanesite uzorak urina na CLED Agar, a zatim drugi uzorak nanesite na MacConkey II Agar. Inkubirajte petrijeve posude aerobno na temperaturi od $35 \pm 2^\circ\text{C}$ između 24 i 48 sati. Nemojte inkubirati u aerobnoj atmosferi obogaćenoj CO_2 !

Računanje i tumačenje rezultata

Prebrojte kolonije (CFU) na ploči. Ako ste koristili petlju od 0,01 mL, svaka rezultatna kolonija predstavlja 100 CFU/mL; ako ste koristili petlju od 0,001 mL, svaka kolonija odgovara 1000 CFU/mL urina.⁸

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

Urin koji se prikuplja suprapubičnom punkcijom mehura: Budući da je mehur sterilan kod pojedinaca bez infekcije, svaki otkriveni CFU ukazuje na infekciju.

Patogeni iz urinarnog trakta obično dostižu veliki broj s istovrsnom morfologijom kolonije, dok se kontaminirane bakterije obično pojavljuju u malom broju, a morfologija kolonija je različita. CLED Agar omogućava rast gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija, dok je rast gram-pozitivnih bakterija delimično do potpuno inhibiran na podlozi MacConkey II Agar.

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

Podloge CLED i MacConkey II Agar omogućavaju samo verovatnu diferencijaciju kolonija s obzirom na fermentaciju laktoze. Za potpunu identifikaciju i određivanje antimikrobne osetljivosti moraju se sprovesti dodatna ispitivanja.¹⁰⁻¹²

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

Organizmi	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Žute kolonije, neprozirno; žuta podloga	Rast; ružičaste kolonije
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Žute do beloplave 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	Neppravilne, bezbojne do ružičaste kolonije
Enterococci	Male žute kolonije, žuta podloga	Delimična do potpuna inhibicija
<i>Staphylococcus aureus</i>	Tamnožute kolonije, jednake boje; žuta podloga	Delimična do potpuna inhibicija
Stafilokoke negativne na koagulazu	Svetložute kolonije, neprozirnije od enterokoka	Delimična do potpuna inhibicija

RADNA SVOJSTVA I OGRANIČENJA POSTUPKA

CLED Agar je pogodan za izolaciju i brojanje mnogih aerobno rastućih mikroorganizama, kao što su *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* i drugi nefermentirajući gram-negativni štapići, enterokoke, stafilokoke, vrste *Candida* i mnoge druge iz uzorka urina.

Streptokoke i drugi organizmi kojima je za rast potrebna krv ili serum mogu se nedovoljno uzgajati na ovoj podlozi ili im je potrebna produžena inkubacija. Ako se očekuje prisutnost tih organizama, uzorak se mora kultivisati i u petrijevoj posudi s krvnim agarom.

Genitourinarni patogeni kao što su *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* ili drugi probirljivi organizmi ne razvijaju se na ovoj pločici. Pogledajte odgovarajuće reference za aktivnosti određenih organizmima.^{9,10,12}

Iako se određeni broj dijagnostičkih ispitivanja može napraviti direktno na podlozi, za potpunu identifikaciju potrebna su biohemijska i, ako je tako navedeno, imunološka ispitivanja sa čistom kulturom.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 podlozi će rasti svi mikroorganizmi vrste *Enterobacteriaceae* i mnoštvo drugih rodova gram-negativnih bakterija, npr. *Pseudomonas* i srodni rodovi. Bakterije koje ne fermentišu rastu na ovoj podlozi ukoliko su otporne na svoje selektivne sastojke. Pogledajte odgovarajuća poglavlja u referencama pre korišćenja podloge za specifične organizme.^{8,10}

Otkriveno je da se neke bakterije vrste *Enterobacteriaceae* i *Pseudomonas aeruginosa* inhibiraju na MacConkey Agar u kada se inkubiraju u atmosferi obogaćenoj CO₂.¹³

Iako se određen broj dijagnostičkih ispitivanja može obaviti direktno na podlozi, za potpunu identifikaciju potrebna su biohemijska i, ako je tako navedeno, imunološka ispitivanja sa 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.

PAKOVANJE/DOSTUPNOST

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Kat. Br. 257562

Pločaste podloge spremne za upotrebu, 20 pločica.

Kat. Br. 257680

Pločaste podloge spremne za upotrebu, 120 pločica.



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 žig organizacije American Type Culture Collection

BD, BD logotip i svi drugi žigovi u vlasništvu su kompanije Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD

Pogledajte odeljak „Reference“ u tekstu na engleskom.

Samo Rx

BD Diagnostics tehnička podrška: Obratite se lokalnom predstavniku kompanije BD.