

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

AVSEDD ANVÄNDNING

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) används för mikrobiologisk urinalys. CLED-agar är ett annat odlingsmedium avsett för isolering och räkning av bakterier i urin. MacConkey II-agar är ett selektivt och differentierande medium för isolering och differentiering av *Enterobacteriaceae* och flera andra gramnegativa stavar från kliniska och icke-kliniska prov.

PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDEN

Mikrobiologisk metod.

CLED-agar: Sandys rapporterade 1960 om utvecklingen av en metod som förhindrar svärmning av *Proteus* på fast media genom att begränsa elektrolyterna i odlingsmediet, vilket senare modifierades flera gånger för användning i urinodling.¹⁻³ Det betecknades som ett cystin-laktos-elektrolyt-“deficient (brist)” (CLED)-medium och rapporterades vara idealt för dopp-inokulattekniker och för urinkologi i allmänhet.

I CLED-agar ger peptoner och nötextrakt näring. Laktos är en energikälla för organismer kapabla till att utnyttja denna genom en fermentering. Bromtymolblått är en pH-indikator för att differentiera laktosfermenterande från icke-laktosfermenterande organismer. Organismer som fermenterar laktos kommer att sänka pH och ändra färgen på mediet från grönt till gult. Cystin tillåter växt av “dvärgkolonier” av koliforma.³ Elektrolytkällor har reducerats för att minimera svärmning av *Proteus* species.

MacConkey II-agar: Ett av de tidigaste mediaformuleringarna för differentiering av *Enterobacteriaceae* utvecklades av MacConkey och publicerades 1900 och 1905.^{4,5} Denna formulering utformades med kunskapen om att gallsalter fälls ut av syror och vissa enteriska mikroorganismer fermenterar laktos medan andra inte har denna förmåga. Senare har detta medium modifierats flera gånger.^{6,7}

MacConkey-agar är endast något selektiv eftersom koncentrationen av gallsalter, vilka inhiberar grampositiva mikroorganismer, är låg i jämförelse med andra enteriska plattmedia. Detta medium rekommenderas för användning med kliniska prover som förmodas innehålla en blandad mikrobiell flora, som urin och många andra. Det tillåter en preliminär gruppering av *Enterobacteriaceae* och andra gramnegativa stavar i laktosfermenterare respektive icke-laktosfermenterare.⁷⁻¹⁰

Formuleringen av MacConkey II-agar var avsedd att förbättra inhiberingen av svärmande *Proteus* species, att uppnå bättre differentiering av laktosfermenterare och för överlägsen växt. I MacConkey II-agar ger peptoner näring. Kristallviolett inhiberar grampositiva bakterier, speciellt enterokocker och stafylokker. Differentieringen av enteriska mikroorganismer åstadkoms genom kombinationen av laktos och den neutrala röda pH-indikatorn. Färglösa eller rosa till röda kolonier produceras beroende på förmågan hos isolatet att fermentera kolhydratet.

Förekomst av CLED- och MacConkey II-agar på denna dubbelplatta möjliggör bestämning av det totala antalet och isoleringen av grampositiva och gramnegativa bakterier i urinprov.

REAGENSER

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Sammansättning* per liter aqua purif.

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Pankreatisk spjälkning av gelatin	4,0 g	Pankreatisk spjälkning av gelatin	17,0 g
Pankreatisk spjälkning av kasein	4,0	Pankreatisk spjälkning av kasein	1,5
Nötextrakt	3,0	Peptiskt spjälkad djurvävnad	1,5
Laktos	10,0	Laktos	10,0
L-cystin	0,128	Gallsalter	1,5
Bromtymolbått	0,02	Natriumklorid	5,0
Agar	15,0	Naturligt röd	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Kristallviolett	0,001
		Agar	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

FÖRSIKTIGHETSBEAKTANDEN

Avsedd för in vitro-diagnostik **IVD**. Endast för professionellt bruk. ②

Plattorna får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller annan försämring.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara plattorna mörkt vid 2 till 8 °C i originalomslaget efter mottagandet fram till dess de skall användas. Undvik överhettning och nedfrysning. Plattorna kan inokuleras fram till utgångsdatum (se etiketten på förpackningen) och inkuberas under rekommenderad inkubationsperiod. Plattor från öppnade 10-plattsförpackningar kan användas i en vecka vid förvaring i ren miljö vid 2 till 8 °C.

KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

Inokulera representativa prover med följande stammar (för ytterligare information hänvisas till skriften **ALLMÄN BRUKSANVISNING**). Inkubera plattorna vid 35 ± 2 °C i en aerob miljö. Undersök plattorna vid 18 till 24 h för mängd av växt, pigmentering, kolonistorlek och inhibering av svärmning/spridning av *Proteus*.

Stammar	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Växt; gula kolonier; gult medium	Växt; rosa kolonier
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Växt; färglösa till blåa kolonier; inhiberad svärmning; lätt spridning acceptabel	Växt; färglösa till beige kolonier, inhiberad svärmning
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Växt; färglösa till gula kolonier; gult medium	Partiell till fullständig inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Växt; gula, små kolonier; gult medium	Partiell till fullständig inhibition
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Växt; små kolonier, vita till gulaktiga; gult medium	Partiell till fullständig inhibition
Inte inokulerad	Gröna till blågröna	Ljusrosa, något opaliserande

FÖRFARANDE

Tillhandahållt material

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (90 mm Biplates). Mikrobiologiskt kontrollerade.

Material som inte medföljer

Extra odlingsmedier, reagenser och laboratorieutrustning efter behov.

Provtyper och provtagning

Detta medium används uteslutande för räkning och differentiering av bakterier i urin.

Mittstråleurin, kateterurin eller urin tagen via suprapubisk blåspunktion kan användas (se även **KLINISKA PRESTANDA OCH PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR**). Iakttag aseptisk teknik vid tagning av urinprover. Urinen måste strykas direkt på mediet ej senare än 2 timmar efter provtagning eller skall förvaras i kylskåp (i högst 24 timmar) så att överväxt av infektiösa agens eller kontaminanter före inokulering av mediet förhindras.⁸⁻¹¹

Testförfarande

Ta ett prov från den ospädda, välblandade urinen med en kalibrerad ögla (0,01 eller 0,001 mL) för vart och ett av de två medierna på dubbelplattan. Kontrollera att ögla är ordentligt fylld med prov. Stryk ut det första urinprovet på CLED-agar och därefter det andra provet på MacConkey II-agar. Inkubera plattorna aerobt vid 35 ± 2 °C i 24 till 48 timmar. Inkubera inte i en aerob miljö anrikad med CO₂!

Beräkning och tolkning av resultat

Räkna antalet kolonier (CFU) på plattan. Om en 0,01 mL-ögla användes representerar varje koloni 100 CFU/mL urin, och om en 0,001 mL-ögla användes representerar varje koloni 1000 CFU/mL urin.⁸

Mittstråleurin och kateterurin: Enligt aktuella riktlinjer utgör en densitet på $\geq 10^5$ CFU/mL för ett enstaka isolat tecken på infektion, $<10^5$ CFU/mL indikerar kontamination från uretra- eller vaginalfloran, och densiteter på mellan 10^4 och 10^5 CFU/mL bör utvärderas på nytt, baserat på den kliniska informationen.⁸⁻¹¹

Urin tagen via suprapubisk blåspunktion: Eftersom urinblåsan hos ej infekterade personer normalt är steril utgör varje CFU-värde tecken på infektion.

Urinpatogener kommer vanligtvis att ge höga räkningar med en jämn kolonimorfologi.

Kontaminerande bakterier uppträder vanligen i lågt antal med varierande kolonimorfologi.

CLED-agar tillåter växt av grampositiva och gramnegativa bakterier, men grampositiva bakterier är partiellt eller helt inhiberade på MacConkey II-agar.

Växt på MacConkey II-agar indikerar förekomst av gramnegativa stavar, t.ex. *Enterobacteriaceae* (som *E. coli* och många andra).

CLED- och MacConkey II-agar tillåter endast en presumtiv differentiering av kolonier avseende laktosfermentering. För en komplett identifiering och för bestämning av antimikrobiell känslighet måste ytterligare tester utföras.¹⁰⁻¹²

Typisk kolonimorfologi på **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** är som följer:

Organismer	CLED-agar	MacConkey II-agar
<i>Escherichia coli</i>	Gula kolonier; opaka; gult medium	Växt; rosa kolonier
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Gula till vitblåa kolonier, ofta mukoida; gulaktigt medium	Mukoida, rosa kolonier
<i>Proteus</i>	Genomskinliga blå kolonier; blågrönt till blått medium	Växt; färglösa till beige kolonier, inhiberad svärmning
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gröna kolonier med typisk matt yta och grov periferi; blått medium	Oregelbundna, färglösa till rosa kolonier
Enterokocker	Små gula kolonier, gult medium	Partiell till fullständig inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i>	Intensivt gula kolonier, jämn i färgen; gult medium	Partiell till fullständig inhibition
Koagulasnegativa stafylokocker	Svagt gula kolonier, mer opaka än enterokocker	Partiell till fullständig inhibition

KLINISKA PRESTANDA OCH PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR

CLED-agar lämpar sig för isoleringen och räkningen av många olika aerobt växande mikroorganismer, t.ex. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* och andra icke-fermenterande gramnegativa stavar, enterokocker, stafylokker, *Candida* species och många andra mikroorganismer som återfinns i urinprover.

Streptokocker och andra organismer, som behöver blod eller serum för att växa, kan endast återvinnas bristfälligt på detta medium eller kan behöva förlängd inkubation. Därför bör provet också odlas på en blodagarplatta om sådana organismer förväntas.

Urogenitala patogener såsom *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* eller andra kräsna organismer växer inte på detta medium. Se referenserna för lämpliga detekteringstekniker av dessa organismer.^{9,10,12}

Fastän en differentiering avseende laktosfermentering och vissa diagnostiska tester kan utföras direkt på detta medium, är biokemisk och, om så angetts, immunologisk testning med rena kulturer nödvändig för fullständig identifikation.¹⁰⁻¹²

MacConkey II-agar är ett av de standardmedier som används för kliniska primärprov på plattor och för flera olika icke-kliniska material. På detta medium kommer alla organismer från familjen *Enterobacteriaceae* och en mångfald av andra gramnegativa stavar såsom *Pseudomonas* och besläktade genera att växa. Icke-fermenterare växer på detta medium om de är resistent mot de selekterade beståndsdelarna. Se respektive kapitel i referenserna innan mediet används för specifika organismer.^{8,10}

Det har förekommit rapporter att vissa *Enterobacteriaceae* och *Pseudomonas aeruginosa* inhiberas på MacConkey-agar vid inkubering i en CO₂-anrikad miljö.¹³

Fastän vissa diagnostiska tester kan utföras direkt på detta medium, är därför biokemisk och, om så angetts, immunologisk testning med renkulturer nödvändig för fullständig identifikation. Se lämpliga referenser.^{8,10,12}

REFERENSER

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.

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Kat. nr. 257562

Färdiga odlingsplattor, 20 plattor

Kat. nr. 257680

Färdiga odlingsplattor, 120 plattor



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 är ett varumärke som tillhör American Type Culture Collection

BD, BD:s logotyp och alla andra varumärken tillhör Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD

Se "References" i den engelska texten.

Endast mot recept

BD Diagnostics teknisk service och support: Kontakta närmaste BD-representant.