

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

TILSIGTET BRUG

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Columbia CNA Agar Improved II med 5 % fåreblod) (Biplate) er et forbedret medium, som anvendes til selektiv isolering af Gram-negative og Gram-positive bakterier fra kliniske præparater.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

MacConkey Agar er en af de første formuleringer (offentliggjort af MacConkey i 1900) til isolering, dyrkning og identifikation af *Enterobacteriaceae* og visse nonfermentorer. Senere er dette medie blevet modificeret flere gange.^{1,2}

MacConkey II Agar-formuleringen blev udviklet i 1987 for at forbedre hæmningen af sværmende *Proteus*-arter, for at opnå en mere definitiv differentiering af laktosefermentorer og nonfermentorer samt den bedste vækst af enteriske bakterier. I MacConkey II Agar udgør peptoner næringsstofferne. Krystalviolet inkluderes også for at hæmme Gram-positive bakterier, især enterokokker og stafylokokker. Differentiering af enteriske mikroorganismer opnås ved kombinationen af lactose og den neutrale røde pH-indikator. Farveløse eller lyserøde til røde kolonier produceres, afhængigt af isolatets evne til at fermentere kulhydratet.³⁻⁵

Ellner et al. rapporterede i 1966 om udviklingen af en blodagarformulering, der er blevet udpeget som Columbia Agar⁶. Dette medium, som opnår større kolonier og mere luksuriøs vækst end på sammenlignelige blodagarbaser, anvendes til medier, der indeholder blod, og til selektive formuleringer. Ellner et al. fandt, at et medium, der består af 10 mg colistin og 15 mg nalidixinsyre pr. liter i en Columbia agarbase beriget med 5 % fåreblod, understøtter væksten af stafylokokker, hæmolytiske streptokokker og enterokokker og hæmmer samtidigt væksten af *Proteus*-, *Klebsiella*- og *Pseudomonas*-arter.⁶ I løbet af årene er bakteriers resistens over for antimikrobielle stoffer steget. Dette er især sandt for Gram-negative stave, som bør være hæmmede, men ofte producerer vækst på Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Columbia CNA Agar med 5 % fåreblod). I Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Columbia CNA Agar Improved II med 5 % fåreblod) er der inkluderet en lille mængde aztreonam for at bevare god selektivitet for dette medium, og koncentrationen af nalidixinsyre blevet reduceret til 5,5 mg/L for at forøge opsamlingen af Gram-positive cocci, specielt stafylokokker. Koncentrationen af colistin er uændret. Aztreonam er en monobactam udelukkende med aktivitet imod Gram-negative bakterier, mens Gram-positive organismer ikke er påvirkede.⁷⁻⁹

Fåreblod tillader påvisning af hæmolytiske reaktioner, som især er vigtige ved formodentlig diagnose af streptokokker.¹⁰

Den væsentligste fordel ved Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Columbia CNA Agar Improved II med 5 % fåreblod) i forhold til Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Columbia CNA Agar med 5 % fåreblod) er den forbedrede vækst af stafylokokker, som oftest påvises efter 18 til 24 timers inkubation, samt en bedre hæmning af resistente Gram-negative bakterier, specielt *Proteus*-arter.

Kombinationen af disse to medier på en dobbeltplade (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) anvendes til selektiv isolering af Gram-negative og Gram-positive bakterier fra kliniske præparater.

REAGENSER

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

Formler* pr. liter rensset vand

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Pankreatisk fordøjelse af gelatine	17,0 g	Peptoner	20,0 g
Pankreatisk fordøjelse af kasein	1,5	Gærekstrakt	3,5
Peptisk fordøjelse af animalsk væv	1,5	Tryptisk fordøjelse af oksehjerte	3,0
Lactose	10,0	Majsstivelse	1,0
Galdesalte	1,5	Natriumchlorid	5,0
Natriumchlorid	5,0	Colistin	10,0 mg
Neutral rød	0,03	Nalidixinsyre	5,5
Krystalviolet	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Fåreblood, defibrineret	5 %
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Justeret og/eller suppleret, som krævet for at opfylde funktionskriterierne.

FORHOLDSREGLER

IVD

. Kun til professionel brug. ⓧ

Pladerne må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring, brud eller andre tegn på nedbrydning.

Læs dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for procedurer om aseptisk håndtering, biologiske farer og bortskaffelse af brugte produkter.

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Pladerne opbevares efter modtagelse i mørke ved 2 til 8 °C i deres originale hylsterindpakning indtil umiddelbart inden ibrugtagning. Undgå nedfrysning og overophedning. Pladerne kan inokuleres indtil udløbsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalede inkubationstider.

Plader fra åbnede stabler med 10 plader kan bruges i en uge, når de opbevares i et rent område ved 2 – 8 °C.

BRUGERKVALITETSKONTROL

Inokuler repræsentative prøver med de følgende stammer (se dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for at få detaljer). Inkubér pladerne i omvendt position ved 35 til 37 °C aerobt i 18 - 24 timer.

Stammer	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Vækst god til fortrinlig, pink til røde kolonier med galdepræcipitater	Hæmning fuldstændig
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Vækst god til fortrinlig, beige til brune kolonier, sværmning hæmmet	Hæmning fuldstændig
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Hæmning (delvis til) fuldstændig	Vækst god til fortrinlig, små grå kolonier
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Hæmning fuldstændig	Hvide til gullige kolonier med beta-hæmolyse
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Ikke testet	Små grålige kolonier, beta-hæmolyse
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Ikke testet	Små grønne til grå kolonier, alphahæmolyse
Ikke-inokuleret	Let lyserød, en smule opalagtig	Rød, gennemsigtig

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (90 mm **Stacker**-dobbeltplader). Mikrobiologisk kontrolleret.

Materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpekulturmedier, reagenser og laboratorieudstyr som påkrævet.

Præparattyper

Medierne på denne dobbeltplade anvendes til selektiv isolering af mange Gram-negative og Gram-positive bakterier fra alle typer kliniske præparater (se også **FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**).

Testprocedure

Udstryg præparatet så hurtigt som muligt efter modtagelse i laboratoriet. Udstrygningspladen anvendes primært til at isolere rene kulturer fra præparater, der indeholder blandet flora. For at inokulere denne dobbeltplade med præparater fra podepinde skal podepinden først rulles hen over et lille område af Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, og derefter henover et lille område af MacConkey II Agar. Brug en frisk podenål til hvert medie, og udstryg for isolering fra inokulerede områder. Inkubér i omgivende luft i 24 til 48 timer ved 35 - 37 °C. Det anbefales ikke at inkubere dette produkt i en kuldioxid-beriget aerob atmosfære, da resultaterne på MacConkey Agar kan afvige fra de dem, der opnås vis inkubation i omgivende luft.¹¹

Da der eksisterer Gram-positive og Gram-negative organismer, som er hæmmede på begge medier på denne dobbeltplade, eller som ikke vokser i omgivende luft, anbefales det at inkludere en ikke-selektiv blodagarplade, f.eks. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, som er inkuberet i 24 til 48 timer ved 35 - 37 °C i en aerob atmosfære beriget med kuldioxid.

RESULTATER

Typiske vækstresultater på **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** er som følger:

Organismer	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Pink til rosa-rød (kan være omringet af en zone med udfældet galde)	Hæmning (delvis til) fuldstændig
<i>Enterobacter</i>	Mucoid, lyserød	Hæmning (delvis til) fuldstændig
<i>Klebsiella</i>	Mucoid, lyserød	Hæmning (delvis til) fuldstændig
<i>Proteus</i>	Farveløs, sværmning hæmmet	Hæmning (delvis til) fuldstændig, sværmning hæmmet
<i>Salmonella</i>	Farveløs	Hæmning fuldstændig
<i>Shigella</i>	Farveløs	Hæmning fuldstændig
<i>Pseudomonas</i>	Uregelmæssig, farveløs til lyserød	Hæmning (delvis til) fuldstændig
Stafylokokker	Hæmning delvis til fuldstændig	Vækst, hvid til gul, små til mellemstore kolonier, med eller uden beta-hæmolyse
Streptokokker	Hæmning fuldstændig	Vækst, små til mellemstore kolonier, med eller uden beta- eller alpha-hæmolyse
Enterokokker	Hæmning delvis til fuldstændig	Vækst, små til mellemstore kolonier, kan have grålige kanter, normalt ikke-hæmolytisk

Andre Gram-negative og Gram-positive bakterier, der ikke er angivet ovenfor, kan også vokse på medierne. Der henvises til litteraturen for detaljer og information om tolkning af vækst.^{4,10,12}

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

BD MacConkey II Agar er ét de standardmedier, der anvendes til primær udpladning af kliniske prøver og til en lang række ikke-kliniske materialer. På dette medium vil organismer af *Enterobacteriaceae*-familien og en lang række andre Gram-negative stave som f.eks. *Pseudomonas* og relaterede slægter vokse. Ikke-fermentorer eller andre Gram-negative stave, som er følsomme over for de selektive ingredienser, vokser ikke på dette medie. Der henvises til de respektive kapitler i litteraturhenvisningerne før anvendelse af dette medium til specifikke organismer.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood er et forbedret selektivt medie til isolering og dyrkning af mange aerobt voksende Gram-positive mikroorganismer, f.eks. streptokokker, stafylokokker, *Listeria* -arter og andre, fra kliniske præparater. Mediet muliggør hurtigere påvisning af stafylokokker, enterokokker og streptokokker samt bedre hæmning af Gram-negative bakterier end Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

I interne effektivitetsevalueringer er 38 stammer (kliniske isolater og opsamlingsstammer) af Gram-positive bakterier, som tilhører arterne nævnt i tabel 1, og mange Gram-negative bakterier blevet testet for vækst på **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)** blev anvendt som vækstreferencemedium. Plader blev inkuberet i en aerob atmosfære i 18 til 24 timer ved 35 - 37 °C.

Quinolon-resistente *Proteus*-stammer blev fuldstændigt hæmmet på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, men producerede kraftig vækst på MacConkey II Agar og Columbia Agar.

Kolonistørrelserne og hæmolytiske zoner på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood var sammenlignelige med dem på Columbia Agar. Alle Gram-positive stammer, med undtagelse af *Corynebacterium diphtheriae*, producerede vækst på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood inden for 18 - 20 timers aerob inkubation og blev fuldstændigt hæmmet på MacConkey II Agar. *C. diphtheriae* skulle inkuberes i 42 timer. Test omfattede stafylokokker, der skulle inkuberes i 2 dage på almen Columbia CNA Agar.

Tabel 1: Gram-positive arter testet og restitueret på BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (aerob inkubation)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus</i> gruppe C
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus</i> gruppe G
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>	
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	

* 48 timers inkubation nødvendig for påvisning på **CNA-II** og **CNA**.

Begrænsninger: Gram-negative bakterier, som viser resistens over for de selektive ingredienser, kan vokse på dette medium.

Candida-arter og andre fungi hæmmes ikke på dette medium.

Selvom de er Gram-positive bakterier, kan aerobe sporformer som f.eks. *Bacillus*-arter, hæmmes på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Korynebakterier skal muligvis inkuberes i 42 til 48 timer Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Visse streptokokker, f.eks. *Streptococcus intermedius* og *Streptococcus milleri* skal have en CO₂-beriget eller anaerob atmosfære for vækst.

Columbia Agar-basen har et relativt højt indhold af kulhydrat. Derfor kan beta-hæmolytiske streptokokker producere en grønlig hæmolytisk reaktion, som fejlagtigt kan antages for at være alphahæmolyse på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Selvom mange forskellige Gram-negative og Gram-positive bakterier kan vokse på af medierne i **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**, anbefales det at inkludere et ikke-selektivt medium til den primære isolering af alle patogener, der kan være til stede i et præparat.¹⁰ **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** er et ofte anvendt ikke-selektivt primært plademedie, der anvendes til dette formål. I forbindelse med isolering af kræsnе organismer, f.eks. *Neisseria* eller *Haemophilus*, skal der endvidere inokuleres en chokoladeagarplade, f.eks. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaléX)** med præparatet, hvis disse organismer forventes.

Det er blevet rapporteret, at visse *Enterobacteriaceae* og *Pseudomonas aeruginosa* er hæmmet på MacConkey Agar ved inkubering i en CO₂-beriget atmosfære.¹¹ Derfor bør **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** ikke inkuberes i en CO₂-beriget atmosfære.

På visse plader med en stærk vækst af stafylokokker på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood mediet og ingen vækst på MacConkey II Agar, er der observeret en falmning af farven på MacConkey II Agar-mediet. Det har ingen negativ påvirkning på restitution og den normale farvning af kolonien på Gram-negative bakterier på MacConkey II Agar.

Selvom visse diagnostiske test kan udføres direkte på disse medier, er det nødvendigt at udføre biokemiske og, hvis det angives, immunologiske analyser med rene kulturer for at opnå fuldstændig identifikation af isolaterne.

LITTERATUR

1. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
4. Farmer, J.J., III., K.D. Boatwright, and J.M. Janda 2007. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M.L. Landry, J.H. Jorgensen, and M. A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.
6. Ellner, P.D., C.J. Stoessel, E. Drakeford, and F. Vasi. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. Am. J. Clin. Pathol. 45: 502-504.
7. Wood, W., G. Harvey, E.S. Olson, and T.M. Reid. 1993. Aztreonam selective agar for Gram positive bacteria. J. Clin. Pathol. 46: 769-771.
8. Wiedemann, B., and B. A. Atkinson. 1986. Susceptibility to antibiotics: species incidence and trends. In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 962-1208. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
9. von Graevenitz, A. 1986. Use of antimicrobial agents as tools in epidemiology, identification, and selection of microorganisms. In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 723-738. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
10. Spellerberg, B., Brandt, C. 2007. *Streptococcus*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M.L. Landry, J.H. Jorgensen, and M. A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Mazura-Reetz, G. T. Neblett, and J. M. Galperin. 1979. MacConkey Agar: CO₂ vs. ambient incubation. Abst. Ann. Mtg. American Society for Microbiology. C179.
12. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, Clinical microbiology procedures handbook, vol.1, p. 1.6.1-1.6.7. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

EMBALLERING/BESTILLING

BD MacConkey II Agar / BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

Kat. Nr.	Beskrivelse
 257574	Plademedier klar til brug, cpu 20
 257584	Plademedier klar til brug, cpu 120

YDERLIGERE OPLYSNINGER

Kontakt den lokale BD-repræsentant angående yderligere oplysninger.



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 varemærke tilhørende American Type Culture Collection

BD, BD-logoet og Stacker er varemærker tilhørende Becton, Dickinson and Company.

© 2015 Becton, Dickinson and Company