

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

HASZNÁLATI JAVASLAT

A BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate) (BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Továbbfejlesztett II 5% juhvérrel (kettős lemez)) klinikai mintából származó Gram-pozitív baktériumok (különösen staphylococcusok és streptococcusok) szelektív izolálására szolgáló továbbfejlesztett táptalaj.

AZ ELJÁRÁS MŰKÖDÉSI ELVE ÉS MAGYARÁZATA

Mikrobiológiai módszer.

A MacConkey Agar az *Enterobacteriaceae* és egyes nem fermentáló baktériumok izolálására, tenyésztésére és azonosítására szolgáló táptalaj egyik legkorábbi változata, amelyet MacConkey 1900-ban publikált. A későbbiekben ezt a táptalajt számos alkalommal módosították.^{1,2}

A MacConkey II Agar formuláját 1987-ben úgy fejlesztették ki, hogy gátolja a rajzó *Proteus* fajokat, ezzel még határozottabbá tegyék a laktóz fermentáló és nem fermentáló baktériumok differenciálását, valamint hatékonyabban szaporodjanak rajta az enterikus baktériumok. A MacConkey II Agar táptalajban peptonok biztosítják a tápanyagokat. A kristályibolya szerepe, hogy gátolja a Gram-pozitív baktériumokat, különösen az enterococcusokat és a staphylococcusokat. Az enterikus mikroorganizmusok differenciálásáért a laktóz és a neutrálvörös pH-indikátor a felelős. A színtelen vagy a rózsaszíntől pirosig terjedő színű telepek az izolátum szénhidrát-fermentáló képessége szerint alakulnak ki.³⁻⁵

Ellner et al. 1966-ban számolt be egy továbbfejlesztett véres agarról, mely a Columbia Agar nevet kapta.⁶ A táptalajt, melyen a telepek nagyobbak és gyorsabban növekednek, mint a többi hasonló véres agaron, vértartalmú táptalajokhoz és szelektív készítményekhez használják. Ellner et al. megállapította, hogy egy literenkénti 10 mg colistin- és 15 mg nalidixic-savtartalmú, Columbia Agar alapú táptalaj 5% juhvérrel dúsítva elősegíti a staphylococcusok, a hemolizáló streptococcusok és az enterococcusok növekedését, míg a *Proteus*, *Klebsiella* és *Pseudomonas* fajok szaporodását gátolja.⁶ Az évek során a baktériumok antimikrobiális hatóanyagokkal szembeni rezisztenciája erősödött. Különösen igaz ez a Gram-negatív pálcákra, amelyek esetében gátlásra van szükség, azonban a Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood táptalajon sok esetben szaporodásnak indulnak. A Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood táptalaj kis mennyiségű aztreonamot tartalmaz, amely fenntartja a táptalaj szelektivitását, nalidixic-sav-tartalmát pedig 5,5 mg/l-re csökkentették a Gram-pozitív minták, különösen a staphylococcusok kimutatásának elősegítése érdekében. A kolisztintartalom nem változott. Az aztreonam olyan monobactam antibiotikum, amely kizárólag a legtöbb Gram-negatív baktériummal szemben fejt ki hatását, míg a Gram-pozitív organizmusokra nem hat.⁷⁻⁹

A juhvér lehetővé teszi a streptococcusok előzetes diagnosztizálásában fontos hemolitikus reakciók detektálását.¹⁰

A Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood táptalaj legfőbb előnye a Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood táptalajjal szemben a 18–24 óra inkubáció után megjelenő staphylococcusok fokozott szaporodása, valamint a rezisztens Gram-negatív baktériumok, különösen a *Proteus* fajok nagyobb gátlása.

E két táptalaj kombinációja a kettős lemezen (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) klinikai mintából származó Gram-negatív és Gram-pozitív baktériumok szelektív izolálására szolgál.

REAGENSEK

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

1 liter szűrt vízre vonatkoztatva*

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Pankreatikusan emésztett zselatin	17,0 g	Peptonok	20,0 g
Pankreatikusan emésztett kazein	1,5	Élesztő kivonat	3,5
Peptikusan emésztett állati szövetek	1,5	Tripszinesen emésztett marhaszív	3,0
Laktóz	10,0	Kukoricakeményítő	1,0
Epesók	1,5	Nátrium-klorid	5,0
Nátrium-klorid	5,0	Kolisztin	10,0 mg
Neutrál vörös	0,03	Nalidixsav	5,5
Kristályibolya	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Juhvér, defibrinált	5%
pH 7,1±0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Úgy beállítva és/vagy kiegészítve, hogy megfeleljen a teljesítménykövetelményeknek.

ÓVINTÉZKEDÉSEK TB: FIGYELMEZTETÉS

IVD . Használata szakértelmet igényel. ②

Ne használja a lemezeket, ha azon mikrobiális szennyeződést, elszíneződést, kiszáradást és betöredezést, illetve a károsodás bármilyen más jelét észleli.

A steril munkával, a biológiai veszélyekkel és a használt termékek hulladékként való kezelésével kapcsolatban olvassa el az **ÁLTALÁNOS HASZNÁLATI ÚTMUTATÓT**.

TÁROLÁS ÉS ELTARTHATÓSÁG

Átvétel után a felhasználásig a lemezeket sötét helyen, 2–8°C-on, az eredeti lezárt tasakban tárolja. Kerülni kell a lemezek megfagyását, illetve túlmelegedését. A lemezeket a lejáratí időn belül kell inokulálni (lásd a csomagolás címkéjét), és az előírt ideig kell inkubálni.

A felbontott 10-es csomagolás lemezeit tiszta helyen, 2–8°C-on kell tárolni, és egy héten belül fel kell használni.

FELHASZNÁLÓI MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Inokuláljon reprezentatív mintákat a következő törzsekkel (a részleteket lásd az **ÁLTALÁNOS HASZNÁLATI ÚTMUTATÓBAN**). Inkubálja a lemezeket, aerob körülmények között, lehetőleg fordított helyzetben, 35-37°C-on 18-24 óráig.

Törzsek	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Jól–kiválóan növekszik; rózsaszíntől pirosig terjedő színű telepek epekicsapódással	Teljes gátlás
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Jól – kiválóan növekszik; drapptól barnásig terjedő színű telepek, gátolt rajzás	Teljes gátlás
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Gátlás: (részlegestől) teljes(ig)	Jól – kiválóan növekszik; kisméretű szürke telepek
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Teljes gátlás	Fehértől sárgásig terjedő színű telepek béta hemolízissel
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Nem tesztelt	Kisméretű szürkés telepek; béta hemolízis
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Nem tesztelt	Kisméretű, zöldtől szürkéig terjedő színű telepek; alfa-hemolízis
Nem inokulált	Halvány rózsaszínű, kissé opálos	Piros, átlátszatlan

ELJÁRÁS

Szállított anyagok

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (90 mm-es **Stacker** kettős lemezek). Mikrobiológiailag ellenőrizve.

Nem szállított anyagok

Kiegészítő táptalajok, reagensek és laboratóriumi eszközök, az előírásoknak megfelelően.

Minták típusa

Az ebben a kettős lemezben tárolt táptalaj számos, bármely klinikai mintából származó Gram-negatív és Gram-negatív baktérium szelektív izolálására szolgál (lásd még:

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK ÉS AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI).

A teszt kivitelezése

A laboratóriumba való beérkezés után a lehető leghamarabb szélessze mintát. A szélesztett lemez elsősorban tiszta tenyészetek izolálására szolgál a vegyes flórájú mintákból.

Ha ezt a kettős lemezt mintavételi pálcából származó mintával kívánja inokulálni, először forgassa meg a pálcát a Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood táptalaj kis felületén, majd a MacConkey II Agar táptalaj kis felületén. Mindkét táptalajhoz a használjon új kacsót, és az izoláláshoz az inokulált területekről szélesszen. Inkubálja normál levegőn, 24–48 órán 35–37°C-on. A termék inkubálása szén-dioxiddal dúsított aerob körülmények között nem javasolt, mivel a MacConkey Agar alkalmazásával elért eredmények eltérhetnek a normál levegőn történő inkubálás során elért eredményektől.¹¹

Mivel léteznek olyan Gram-pozitív és Gram-negatív organizmusok, amelyek az e kettős lemezen található mindkét táptalajon inhibeálva vannak vagy normál levegőn nem szaporodnak, javasolt nem szelektáló véresagar-lemezek, pl. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** használata is, amelynek inkubálása 24–48 órán keresztül, 35–37°C-on, szén-dioxiddal dúsított aerob körülmények között történik.

Eredmények

A tipikus növekedési eredmények a **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** táptalajon a következők:

Organizmusok	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Rózsaszíntől pirosig terjedő színű (körülötte esetleg kicsapódott epe látszik)	Gátlás: (részlegestől) teljes(ig)
<i>Enterobacter</i>	Nyálkás, rózsaszínű	Gátlás: (részlegestől) teljes(ig)
<i>Klebsiella</i>	Nyálkás, rózsaszínű	Gátlás: (részlegestől) teljes(ig)
<i>Proteus</i>	Színtelen telepek, gátolt rajzás	Gátlás: (részlegestől) teljes(ig); a rajzás gátolt
<i>Salmonella</i>	Színtelen	Teljes gátlás
<i>Shigella</i>	Színtelen	Teljes gátlás
<i>Pseudomonas</i>	Szabálytalan, színtelentől rózsaszínig terjedő színű	Gátlás: (részlegestől) teljes(ig)
Staphylococcusok	Gátlás: részlegestől a teljesig	Növekedés; fehértől sárgáig terjedő színű, aprótól közepesig terjedő méretű telepek béta vagy alfa hemolízissel vagy anélkül.
Streptococcusok	Teljes gátlás	Szaporodás; aprótól közepesig terjedő méretű telepek béta vagy alfa hemolízissel vagy anélkül.
Enterococcusok	Gátlás: részlegestől a teljesig	Növekedés; aprótól közepesig terjedő méretű telepek; néha szürkés széllel, általában nem hemolizáló

Más, a fentiekben nem felsorolt Gram-negatív és Gram-pozitív baktériumok is nőhetnek ezeken a táptalajokon. Részletekért és az eltérő telepnövekedés magyarázatára tanulmányozza át az irodalomjegyzéket.^{4,10,12}

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK ÉS AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

A **BD MacConkey II Agar** egyike azoknak a standard táptalajoknak, melyeket klinikai minták és nem klinikai minták széles skálájának elsődleges szélesztéséhez alkalmaznak. Ezen a táptalajon az *Enterobacteriaceae* család tagjai és számos más Gram-negatív pálcá, mint például a *Pseudomonas* és a kapcsolódó nemzetségek is szaporodnak. A nem fermentáló vagy más Gram-negatív pálcák, melyek érzékenyek a szelektáló összetevőkre, nem szaporodnak ezen a

táptalajon. Az egyes mikroorganizmusokkal való használat előtt tanulmányozza a vonatkozó szakirodalmat.^{4,10,12}

A **BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood** továbbfejlesztett szelektív táptalaj, amely számos aerob Gram-pozitív mikroorganizmus, pl. streptococcusok, a staphylococcusok, a *Listeria* fajok és más fajok klinikai mintákból történő izolálására és tenyésztésére szolgál. Ez a táptalaj lehetővé teszi a staphylococcusok, az enterococcusok és a streptococcusok a Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood használatával elérhetőnél gyorsabb kimutatását, valamint a Gram-negatív baktériumok jobb gátlását.

A belső teljesítményértékelés folyamán az 1. táblázatban említett fajokhoz tartozó Gram-pozitív baktériumok közül 38 törzs (klinikai izolátumok és collection törzsek), valamint számos Gram-negatív baktérium szaporodását tesztelték a **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** táptalajon. Referencia-táptalajként a **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)** szolgált. A lemezeket aerob körülmények között 18-24 órán át 35-37°C-on inkubálták.

A kinolon-rezisztens *Proteus* fajok esetében teljes gátlás volt megfigyelhető a Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood táptalajon, míg a MacConkey II Agar és a Columbia Agar táptalajon e fajok nagymértékű növekedésnek indultak.

A Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood táptalaj esetében a telepek méretei és a hemolitikus zónák a Columbia Agar táptalajon megfigyelhetőkhöz voltak hasonlóak. 18-20 órás, aerob körülmények között történő inkubáció során a *Corynebacterium diphtheriae* kivételével minden Gram-pozitív törzs szaporodott a Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood táptalajon, míg a MacConkey II Agar táptalajon teljes gátlás alakult ki. A *C. diphtheriae* esetében 42 órás inkubálásra volt szükség. A tesztelés során staphylococcusokat is vizsgáltak, amelyek esetében a hagyományos Columbia CNA Agar táptalajon 2 napos inkubálásra volt szükség.

1. táblázat: A BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood táptalajon tesztelt és kimutatott Gram-pozitív fajok (aerob körülmények között történő inkubáció)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus</i> C csoport
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus</i> G csoport
<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>	

* A CNA-II és a CNA esetében a kimutatáshoz 48 órás inkubációra van szükség.

Korlátozások: A szelektáló összetevőkkel szemben rezisztens Gram-negatív baktériumok szaporodhatnak ezen a táptalajon.

Ez a táptalaj nem gátolja a *Candida* fajok és más gombák szaporodását.

Annak ellenére, hogy Gram-pozitívak, olyan aerob spóráképző fajok, mint pl. a *Bacillus* spp. fejlődése gátolt lehet a Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood táptalajon.

A korinebaktériumok esetében a Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood táptalajon 42-48 órás inkubálásra lehet szükség.

Bizonyos streptococcusok, pl. a *Streptococcus intermedius* és a *Streptococcus milleri* szaporodásához CO₂-vel dúsított vagy anaerob körülményekre van szükség.

A Columbia Agar alap szénhidrátartalma viszonylag magas. Ezért a béta-hemolizáló streptococcusok olykor zöld hemolitikus reakciót mutathatnak, mely összetéveszthető az alfa-hemolízissel Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood táptalajon.

Jóllehet a **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** termékben található táptalajok valamelyikén igen sokféle Gram-negatív és Gram-

pozitív baktérium képes szaporodni, a mintában esetlegesen jelen lévő valamennyi kórokozó elsődleges izolálására javasolt nem szelektív táptalaj használata.¹⁰ A **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** széles körben használt nem szelektív elsődleges lemezes táptalaj, amely erre a célra alkalmazható. Érzékenyebb organizmusok, például a *Neisseria* vagy a *Haemophilus* izolálásához a csokoládéagar-lemezt, például a **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalEx)** lemezt szintén inokulálni kell a mintával, amennyiben várhatólag ilyen organizmusok vannak jelen.

Leírták, hogy bizonyos *Enterobacteriaceae* és *Pseudomonas aeruginosa* organizmusok szaporodása gátolt a MacConkey Agar lemezen, amennyiben az inkubálás CO₂-vel dúsított levegőben történik.¹¹ Ezért a **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** nem inkubálható CO₂-vel dúsított levegőben.

Bizonyos lemezeken, amelyeken a staphylococcusok nagy mértékű szaporodásnak indultak a Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood táptalajon és nem szaporodtak a MacConkey II Agar táptalajon, a MacConkey II Agar táptalaj színének elhalványulását figyelték meg. Ez a jelenség nincs kedvezőtlen hatással a Gram-negatív baktériumok kimutatására és a telepeik tipikus elszíneződésére a MacConkey II Agar táptalajon.

Bár bizonyos diagnosztikai tesztek közvetlenül is el lehet végezni ezeken a táptalajokon, az izolátumok teljes azonosításhoz tiszta tenyészetten kell elvégezni biokémiai és, amennyiben javallott, immunológiai tesztek is.

IRODALOMJEGYZÉK

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.

CSOMAGOLÁS/KISZERELÉSEK

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

Kat. sz.	Leírás
REF 257574	Használatra kész lemezes táptalajok, 20 darabos csomag
REF 257584	Használatra kész lemezes táptalajok, 120 darabos csomag

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

További információkért forduljon a BD helyi képviselőjéhez.



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/>

Az ATCC az American Type Culture Collection védjegye.

A BD, a BD logó és a Stacker a Becton, Dickinson and Company védjegye.

© 2015 Becton, Dickinson and Company