

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

BRUKSOMRÅDE

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate) (Columbia CNA-agar, forbedret II, med 5 % saueblod (todelt skål)) er et forbedret medium som brukes til selektiv isolasjon av gramnegative og grampositive bakterier fra kliniske prøver.

PRINSIPPER FOR OG FORKLARING AV PROSEDYREN

Mikrobiologisk metode.

MacConkey Agar er en av de tidligste formuleringene (publisert i 1900 av MacConkey) for isolasjon, dyrking og identifikasjon av *Enterobacteriaceae* og visse ikke-fermenterende bakterier. Senere ble dette mediet modifisert flere ganger.^{1,2}

MacConkey II Agar-formuleringen ble utformet i 1987 for å forbedre hemmingen av svermende *Proteus*-arter for å oppnå mer definitiv differensiering mellom laktosefermenterende bakterier og ikke-fermenterende bakterier, og for overlegen vekst av tarmbakterier. I MacConkey II Agar er det peptoner som står for næringsstoffer. Krystallfiolett er inkludert for å hemme grampositive bakterier, spesielt enterokokker og stafylokokker. Differensiering mellom tarmmikroorganismer oppnås ved å kombinere laktose og pH-indikatoren nøytralrød. Det dannes fargeløse eller rosa til røde kolonier avhengig av isolatets evne til å fermentere karbohydratet.³⁻⁵

Ellner et al. rapporterte i 1966 om utvikling av en blodagarformulering som har fått betegnelsen Columbia Agar.⁶ Dette mediet, som gir større kolonier og rikere vekst enn på sammenlignbare blodagarbasiser, brukes i medier som inneholder blod, og i selektive formuleringer. Ellner et al. har vist at et medium som inneholder 10 mg colistin og 15 mg nalidixinsyre per liter i en Columbia-agarbasis, tilsatt 5 % saueblod, støtter vekst av stafylokokker, hemolytiske streptokokker og enterokokker samtidig som det hemmer vekst av arter av *Proteus*, *Klebsiella* og *Pseudomonas*.⁶ Med tiden har bakteriers resistens overfor antimikrobielle midler økt. Dette gjelder spesielt for gramnegative staver som burde bli hemmet, men som ofte gir vekst på Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood. I Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood er det inkludert en liten mengde aztreonam for å opprettholde god selektivitet for dette mediet, og konsentrasjonen av nalidixinsyre er blitt redusert til 5,5 mg/L for å øke gjenvinningen av grampositive kokker, spesielt stafylokokker. Konsentrasjonen av colistin forble uendret. Aztreonam er et monobactam som kun er aktivt overfor de fleste gramnegative bakterier, mens grampositive organismer ikke blir berørt.⁷⁻⁹ Saueblod muliggjør påvisning av hemolytiske reaksjoner som er spesielt viktige ved presumptiv diagnose av streptokokker.¹⁰

Hovedfordelen med Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood i forhold til Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood er forbedret vekst av stafylokokker, som påvises oftere etter 18 til 24 timers inkubasjon, og bedre hemming av resistente gramnegative bakterier, spesielt arter av *Proteus*.

Kombinasjonen av disse mediene i en todelt skål (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) brukes til selektiv isolasjon av gramnegative og grampositive bakterier fra kliniske prøver.

REAGENSER

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

Formuleringer* per liter renset vann

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Nedbrutt gelatin fra bukspyttkjertel	17,0 g	Peptoner	20,0 g
Nedbrutt kasein fra bukspyttkjertel	1,5	Gjærekstrakt	3,5
Peptider fra nedbrytning av dyrevev	1,5	Trypsin fra nedbrytning av storfehjerte	3,0
Laktose	10,0	Maisstivelse	1,0
Gallesalter	1,5	Natriumklorid	5,0
Natriumklorid	5,0	Colistin	10,0 mg
Nøytralrød	0,03	Nalidixinsyre	5,5
Krystallfiolett	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Saueblod, defibrinert	5 %
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Justert og/eller supplert etter behov for å oppfylle ytelseskriteriene.

FORSIKTIGHETSREGLER

IVD

. Kun til profesjonell bruk. ⓧ

Skålene må ikke brukes hvis de viser tegn på mikrobiell kontaminasjon, misfarging, uttørking, sprekkdannelse eller har andre tegn til forringelse.

Se dokumentet **GENERELL BRUKSANVISNING** for informasjon om aseptisk håndtering, biologiske farer og avhending av brukte produkter.

OPPBEVARING OG HOLDBARHET

Etter mottak skal skålene oppbevares i mørke ved 2 til 8 °C i originalinnpakningen inntil like før de skal brukes. Unngå frysing og overoppheting. Skålene kan inokuleres frem til utløpsdatoen (se etiketten på pakningen) og inkuberes i de anbefalte inkubasjonsperiodene.

Skåler fra åpnete stabler på 10 skåler kan brukes i én uke når de oppbevares på et rent sted med en temperatur på 2 til 8 °C.

KVALITETSKONTROLL FOR BRUKERE

Inokuler representative prøver med følgende stammer (for mer informasjon, se dokumentet **GENERELL BRUKSANVISNING**). Inkuber skålene, fortrinnsvis i stillingen opp-ned, 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	Vekst, god til ypperlig; rosa til røde kolonier med galleutfellinger	Hemming, fullstendig
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Vekst, god til ypperlig; beige til brunaktige kolonier, sverming hemmet	Hemming, fullstendig
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Hemming, (delvis til) fullstendig	Vekst, god til ypperlig; små grå kolonier
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Hemming, fullstendig	Hvite til gulaktige kolonier med betahemolyse
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Ikke testet	Små gråaktige kolonier; betahemolyse
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Ikke testet	Små grønne til grå kolonier; alfavemolyse
Ikke-inokulert	Lys rosa, svakt opaliserende	Røde, ugjennomskinnelige

PROSEDYRE

Materialer som følger med

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (90 mm **Stacker** biplates) (90 mm todelte Stacker-skåler). Mikrobiologisk kontrollert.

Materialer som ikke følger med

Supplerende vekstmedier, reagenser og laboratorieutstyr etter behov.

Prøvetyper

Mediene i denne todelte skålen brukes til selektiv isolasjon av mange gramnegative og grampositive bakterier fra alle typer kliniske prøver (se også **YTELSESESEGNSKAPER OG BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN**).

Testprosedyre

Lag utstryk med striper av prøven så snart som mulig etter at den er mottatt i laboratoriet. Utstryksskålen brukes primært til å isolere rene kulturer fra prøver som inneholder en blandet flora.

For å inokulere denne todelte skålen med prøver fra pensler, ruller du først penselen over et lite område av Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood og deretter over et lite område av MacConkey II Agar. Bruk en ny løkke for hvert av mediene, og stryk ut striper for isolasjon fra de inokulerte områdene. Inkuber i omgivelsesluft i 24 til 48 timer ved 35 – 37 °C. Det anbefales ikke å inkubere dette produktet i en karbondioksidanrikt aerob atmosfære, siden resultatene på MacConkey Agar kan variere fra dem som oppnås med inkubasjon i omgivelsesluft.¹¹

Siden det finnes grampositive og gramnegative organismer som blir hemmet på begge medier på denne todelte skålen, eller som ikke vokser i omgivelsesluft, anbefales det å inkludere en ikke-selektiv blodagarskål, for eksempel **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, som inkuberes i 24 til 48 timer ved 35 – 37 °C i en aerob atmosfære anrikt med karbondioksid.

Resultater

Typiske vekstresultater 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>	Rosa til rosenrød (kan være omgitt av en sone med galleutfelling)	Hemming, (delvis til) fullstendig
<i>Enterobacter</i>	Slimlignende, rosa	Hemming, (delvis til) fullstendig
<i>Klebsiella</i>	Slimlignende, rosa	Hemming, (delvis til) fullstendig
<i>Proteus</i>	Fargeløs, sverming hemmet	Hemming, (delvis til) fullstendig; sverming hemmet
<i>Salmonella</i>	Fargeløs	Hemming, fullstendig
<i>Shigella</i>	Fargeløs	Hemming, fullstendig
<i>Pseudomonas</i>	Uregelmessig, fargeløs til rosa	Hemming, (delvis til) fullstendig
Stafylokokker	Hemming, delvis til fullstendig	Vekst, hvit til gul, små til mellomstore kolonier, med eller uten betahemolyse
Streptokokker	Hemming, fullstendig	Vekst, svært små til mellomstore kolonier, med eller uten beta- eller alfa-hemolyse
Enterokokker	Hemming, delvis til fullstendig	Vekst, svært små til mellomstore kolonier, kan ha gråaktige kanter, vanligvis ikke-hemolytiske

Andre gramnegative og grampositive bakterier, som ikke er oppgitt ovenfor, kan også vokse på disse mediene. Se i referansene når det gjelder detaljer og tolkning av vekst.^{4,10,12}

YTELSESKARAKTERISTIKKER OG BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN

BD MacConkey II Agar er et av standardmediene som benyttes for primær skåldyrking av kliniske prøver og for en rekke ikke-kliniske materialer. På dette mediet vil alle organismer i familien *Enterobacteriaceae* og en rekke andre gramnegative staver som *Pseudomonas* og relaterte slekter, vokse. Ikke-fermenterende bakterier eller andre gramnegative staver som er følsomme overfor de selektive innholdsstoffene, vokser ikke på dette mediet. Se de respektive kapitlene i referansene før du bruker mediet for bestemte organismer.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood er et forbedret selektivt medium for isolasjon og dyrking av mange aerobt voksende grampositive mikroorganismer, blant annet streptokokker, stafylokokker, arter av *Listeria* og andre, fra kliniske prøver. Mediet muliggjør raskere påvisning av stafylokokker, enterokokker og streptokokker og bedre hemming av gramnegative bakterier enn Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

I interne ytelsesevalueringer er 38 stammer (kliniske isolater og stammer fra samlinger) av grampositive bakterier fra artene som er oppgitt i tabell 1, og mange gramnegative bakterier, blitt testet for vekst på **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (= COL)** ble brukt som referansemedium. Skåler ble inkubert i en aerob atmosfære i 18 til 24 timer ved 35 – 37 °C. Kinolonresistente *Proteus*-stammer ble fullstendig hemmet på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, men hadde omfattende vekst på MacConkey II Agar og Columbia Agar. Kolonistørrelser og hemolytiske soner på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood var sammenlignbare med dem på Columbia Agar. Alle grampositive stammer unntatt *Corynebacterium diphtheriae* hadde vekst på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood innen 18 – 20 timer med aerob inkubasjon og var fullstendig hemmet på MacConkey II Agar. *C. diphtheriae* trengte 42 timers inkubasjon. Testingen omfattet stafylokokker som trengte 2 dagers inkubasjon på vanlig Columbia CNA Agar.

Tabell 1: Grampositive arter som ble testet og gjenvunnet på BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (aerob inkubasjon)

<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 inkubasjon nødvendig for påvisning på **CNA-II** og **CNA**.

Begrensninger: Gramnegative bakterier som viser resistens overfor de selektive innholdsstoffene, kan vokse på dette mediet.

Candida-arter og andre fungi blir ikke hemmet på dette mediet.

Selv om de er grampositive bakterier, kan aerobe sporedannende bakterier, som arter av *Bacillus*, bli hemmet på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Corynebakterier kan trenge 42 til 48 timers inkubasjon på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Visse streptokokker, bl.a. *Streptococcus intermedius* og *Streptococcus milleri* trenger en CO₂-anriket eller anaerob atmosfære for å vokse.

Columbia Agar-basis har et relativt høyt karbohydratinnhold. Derfor kan betahemolytiske streptokokker føre til en hemolytisk reaksjon med grønnaktig produkt som feilaktig kan tas for alfa-hemolyse på Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Selv om et stort utvalg av gramnegative og grampositive bakterier vil vokse på et av mediene i **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**, anbefales det å inkludere et ikke-selektivt medium for primær isolasjon av alle patogener som kan være til stede i en prøve.¹⁰ **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** er et hyppig brukt ikke-selektivt primært skålmmedium som kan brukes for dette formålet. For isolasjon av kresne organismer som *Neisseria* eller *Haemophilus* bør en sjokoladeagarskål, for eksempel **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalEx)** (BD-sjokoladeagar (GC II Agar med IsoVitalEx)), også inokuleres med prøven hvis disse organismene er forventet.

Det er blitt rapportert at noen *Enterobacteriaceae* og *Pseudomonas aeruginosa* blir hemmet på MacConkey Agar når de blir inkubert i en CO₂-anriket atmosfære.¹¹ Derfor bør **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** ikke inkuberes i en CO₂-anriket atmosfære.

På noen skåler med sterk vekst av stafylokokker på mediet Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood og ingen vekst på MacConkey II Agar, er falming av fargen på MacConkey

II Agar-mediet blitt observert. Dette har ingen negativ virkning på gjenvinningen og den typiske kolonifargen til gramnegative bakterier på MacConkey II Agar.

Selv om visse diagnostiske tester kan utføres direkte på disse mediene, er det nødvendig med biokjemisk og, hvis indisert, immunologiske tester ved bruk av rene kulturer, for fullstendig identifikasjon av isolatene.

REFERANSER

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.

FORPAKNING/TILGJENGELIGHET

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

Kat. nr.	Beskrivelse
 257574	Ferdiglagde skålmedier, 20 stk.
 257584	Ferdiglagde skålmedier, 120 stk.

FLERE OPPLYSNINGER

Ta kontakt med din lokale BD-representant for mer informasjon.



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 varemerke som tilhører American Type Culture Collection

BD, BD-logoen og Stacker er varemerker som tilhører Becton, Dickinson and Company.

© 2015 Becton, Dickinson and Company

PA-257574.02