



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

UTILIZARE SPECIFICĂ

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate) (cu 5% sângeră de oaie (placă dublă)) este un mediu îmbogățit folosit pentru izolarea selectivă a bacteriilor Gram negative și Gram pozitive din probele clinice.

PRINCIPIILE ȘI EXPLICAREA PROCEDURII

Metodă microbiologică.

Agarul MacConkey este una din cele mai timpurii formule (publicată în anul 1900 de MacConkey) destinate izolării, cultivării și identificării *Enterobacteriaceae* și a anumitor bacterii nefermentative. Mai târziu, acest mediu a fost modificat de mai multe ori.^{1,2}

Formula agarului MacConkey II a fost concepută în 1987 pentru a îmbunătăți inhibarea acumulării speciilor de *Proteus*, pentru a realiza o diferențiere mai bună a bacteriilor care fermentează lactoza de cele care nu fermentează lactoza și pentru o creștere mai bună a bacteriilor enterice. În mediul MacConkey II Agar, peptonele furnizează substanțele nutritive. Violetul de gențiană este inclus pentru a inhiba bacteriile Gram pozitive, în special enterococii și stafilococii. Diferențierea microorganismelor enterice este realizată prin combinarea lactozei cu indicatorul de pH roșu neutru. Coloniile incolore sau roz spre roșu sunt produse în funcție de proprietatea izolatului de a fermenta carbohidratul.³⁻⁵

În 1966, Ellner și alții au raportat dezvoltarea unei formule de agar cu sângeră, care a fost denumit Agarul Columbia⁶. Acest mediu de cultură, care obține colonii mai mari și creștere mai luxuriantă decât în cazul bazelor de agari cu sângeră, este utilizat pentru mediile de cultură ce conțin sângeră și formule selective. Ellner și alții au descoperit că un mediu de cultură ce conține 10 mg de colistină și 15 mg de acid nalidixic per litru într-o bază de agar Columbia, îmbogățită cu 5% sângeră de oaie, susține creșterea stafilococilor, streptococilor hemolitici și a enterococilor, inhibând creșterea speciilor de *Proteus*, *Klebsiella* și *Pseudomonas*.⁶ De-a lungul anilor, rezistența bacteriilor la agenții antimicrobieni a crescut. Acest lucru este valabil în special pentru bacili Gram negativi care ar trebui să fie inhibați, dar adesea manifestă semne de creștere pe Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood. În Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood este inclusă o cantitate mică de aztreonam pentru a se păstra o selectivitate bună a acestui mediu, iar concentrația de acid nalidixic a fost redusă la 5,5 mg/L pentru a crește recuperarea cociilor gram-pozitivi, în special a stafilococilor. Concentrația de colistină rămâne neschimbată. Aztreonam este un monobactam cu activitate doar împotriva majorității bacteriilor Gram negative, organismele Gram pozitive nefiind afectate.⁷⁻⁹

Sângele de oaie permite detectarea reacțiilor hemolitice care sunt importante în special în diagnosticarea prezumptivă a streptococilor.¹⁰

Avantajul principal al Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood față de Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood este creșterea îmbunătățită a stafilococilor care sunt cel mai adesea detectați după 18 până la 24 de ore de incubație și inhibarea mai bună a bacteriilor Gram negative rezistente, în special a speciei *Proteus*.

Combinarea acestor două medii într-o placă dublă (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) este utilizată pentru izolarea selectivă a bacteriilor Gram negative și Gram pozitive din probele clinice.

REACTIVI

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate) (cu 5% sânge de oaie (placă dublă))

Formule* pentru un litru de apă purificată

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Extract pancreatic de gelatină	17,0 g	Peptone	20,0 g
Extract pancreatic de cazeină	1,5	Extract de drojdie	3,5
Extract peptic de țesut de origine animală	1,5	Extract triptic din inimă de vită	3,0
Lactoză	10,0	Amidon din porumb	1,0
Săruri biliare	1,5	Clorură de sodiu	5,0
Clorură de sodiu	5,0	Colistină	10,0 mg
Roșu neutru	0,03	Acid nalidixic	5,5
Cristal violet	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Sânge de oaie, defibrinat	5%
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Ajustată și/sau suplimentată după cum este necesar pentru a îndeplini criteriile de performanță.

PRECAUȚII

IVD . Numai pentru uz profesional. ⓧ

Nu utilizați plăcile dacă prezintă semne de contaminare microbiană, decolorare, deshidratare, fisuri sau alte semne de deteriorare.

Consultați documentul **INSTRUCȚIUNI GENERALE PENTRU UTILIZARE** pentru detalii referitoare la procedurile de manipulare aseptice, riscurile biologice și eliminarea produselor utilizate.

DEPOZITAREA ȘI DURATA DE DEPOZITARE

La recepție, depozitați plăcile la întuneric la 2 până la 8 °C, în ambalajul original până în momentul utilizării. Evitați congelarea și supraîncălzirea. Plăcile pot fi inoculate până la expirarea termenului de valabilitate (consultați eticheta ambalajului) și pot fi incubate pentru perioadele recomandate de incubare.

Plăcile dintr-o stivă de 10 plăci desfăcută pot fi utilizate timp de o săptămână, dacă sunt depozitate într-o zonă curată, la o temperatură cuprinsă între 2 și 8 °C.

CONTROLUL CALITĂȚII EFECTUAT DE UTILIZATOR

Inoculați probe reprezentative cu următoarele tulpini (pentru informații suplimentare, consultați documentul **INSTRUCȚIUNI GENERALE DE UTILIZARE**). Incubați plăcile, de preferință într-o poziție răsturnată, la 35 până la 37° C, în atmosferă aerobă, timp de 18 până la 24 de ore.

Tulpini	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Creștere bună spre excelentă, colonii roz până la roșu, cu precipitate de bilă	Inhibare completă
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Creștere bună spre excelentă, colonii bej până la maronii, acumulare inhibată	Inhibare completă
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibare (parțială spre) completă	Creștere bună spre excelentă, colonii gri de dimensiuni mici
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibare completă	Colonii albe spre gălbui, cu beta-hemoliză
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Netestat	Colonii cenușii de mici dimensiuni, cu beta-hemoliză
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Netestat	Colonii verzi spre gri de mici dimensiuni, cu alfa-hemoliză
Neinoculat	Roz deschis, ușor opalescente	Roșu, opac

PROCEDURA

Materiale furnizate

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (cu 5% sânge de oaie) (plăci duble **Stacker** de 90 mm). Controlate microbiologic.

Materiale nefurnizate

Medii de cultură auxiliare, reactivi și echipamentul de laborator necesar.

Tipuri de probe

Mediile conținute pe această placă dublă sunt utilizate pentru izolarea selectivă a multor bacterii Gram negative și Gram pozitive din toate tipurile de probe clinice (consultați și

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII).

Procedura de testare

Însămânțați proba cât mai repede posibil după ce este primită în laborator. Placa însămânțată este utilizată inițial pentru a izola culturi pure din probe ce conțin floră mixtă.

Pentru a inocula această placă dublă cu probe din frotiuri, rulați mai întâi frotiul deasupra unei zone mici din Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, iar apoi deasupra unei zone mici din MacConkey II Agar. Utilizând pentru fiecare din mediile de cultură o ansă nefolosită, însămânțați pentru izolarea de zonele inoculate. Incubați în atmosferă aerobă timp de 24 până la 48 de ore la 35 – 37° C. Nu se recomandă incubarea acestui produs în atmosferă aerobă îmbogățită cu dioxid de carbon, deoarece rezultatele pe MacConkey Agar pot fi diferite de cele obținute prin incubarea în aer ambiant.¹¹

Întrucât există organisme Gram pozitive și Gram negative care sunt inhibitate în ambele medii de cultură ale acestei plăci duble sau care nu cresc în aer ambiant, se recomandă includerea unei plăci cu agar de sânge non-selectiv, de ex., **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** care se incubează timp de 24 până la 48 de ore la 35 – 37° C în atmosferă aerobă îmbogățită cu dioxid de carbon.

REZULTATE

Rezultatele tipice ale creșterii pe **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** sunt descrise mai jos:

Organisme	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Colonii roz spre roșu deschis (pot fi înconjurate de o zonă cu precipitat de bilă)	Inhibare (parțială spre) completă
<i>Enterobacter</i>	Colonii mucoide, roz	Inhibare (parțială spre) completă
<i>Klebsiella</i>	Colonii mucoide, roz	Inhibare (parțială spre) completă
<i>Proteus</i>	Colonii incolore, acumulare inhibitată	Inhibare (parțială spre) completă; acumulare inhibitată
<i>Salmonella</i>	Incolor	Inhibare completă
<i>Shigella</i>	Incolor	Inhibare completă
<i>Pseudomonas</i>	Colonii neregulate, incolore spre roz	Inhibare (parțială spre) completă
Stafilococi	Inhibare parțială spre completă	Creștere; colonii albe spre galbene, de dimensiuni mici până la medii; cu sau fără beta-hemoliză
Streptococi	Inhibare completă	Creștere; colonii de dimensiuni minuscule până la medii; cu sau fără alfa ori beta-hemoliză
Enterococci	Inhibare parțială spre completă	Creștere; colonii de dimensiuni minuscule până la medii; pot prezenta contururi cenușii; de regulă non-hemolitice

Alte bacterii Gram negative și Gram pozitive, care nu sunt enumerate mai sus, pot, de asemenea, să crească în aceste medii. Pentru detalii și interpretarea creșterii, consultați referințele.^{4,10,12}

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII

BD MacConkey II Agar este unul din mediile standard utilizate pentru însămânțarea pe plăci inițială a probelor clinice și pentru numeroase materiale non-clinice. Pe acest mediu vor crește toate organismele din familia *Enterobacteriaceae* și o varietate de alți bacili Gram negativi, precum *Pseudomonas* și genuri înrudite. Bacteriile care nu fermentează sau alți bacili Gram negativi susceptibili la ingredientele selective nu cresc pe acest mediu. Consultați capitolele respective din referințe înainte de a utiliza mediul pentru organisme specifice.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood este un mediu selectiv îmbunătățit pentru izolarea și cultivarea multor microorganisme Gram pozitive aerobe, de ex. streptococi, stafilococi, specia *Listeria* și altele, din probe clinice. Mediul permite o detectare mai rapidă a stafilococilor, enterococilor și streptococilor și o inhibare mai bună a bacteriilor Gram negative decât Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

În evaluări interne de performanță, 38 de tulpini (izolate clinice și tulpini colectate) de bacterii Gram pozitive aparținând speciilor menționate în Tabelul 1 și multe bacterii Gram negative au fost testate pentru creștere pe **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplat)**. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)** s-a folosit ca mediu de creștere de referință. Plăcile au fost incubate în atmosferă aerobă timp de 18 până la 24 de ore la 35 – 37° C

Tulpinile de *Proteus* rezistente la quinolonă au fost complet inhibitate pe Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, dar au manifestat o creștere puternică pe MacConkey II Agar și Columbia Agar.

Dimensiunile coloniilor și zonele hemolitice de pe Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood au fost comparabile cu cele de pe Columbia Agar. Toate tulpinile Gram pozitive cu excepția *Corynebacterium diphtheriae* au crescut pe Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood după 18 – 20 ore de incubație aerobă și au fost complet inhibitate pe MacConkey II Agar. *C. diphtheriae* a necesitat 42 de ore de incubație. Testele au inclus stafilococi care necesitau 2 zile de incubație pe Columbia CNA Agar obișnuit.

Tabelul 1: Speciile Gram pozitive testate și recuperate pe BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (incubație aerobă)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus</i> grup C
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus</i> grup 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 de ore de incubație necesare pentru detectarea CNA-II și CNA.

Limitări: Bacteriile Gram negative care prezintă rezistență la ingredientele selective pot crește în acest mediu.

Speciile de *Candida* și alți fungi nu sunt inhibați în acest mediu.

Deși sunt bacterii Gram pozitive, formatorii aerobi de spori precum specia *Bacillus* pot fi inhibați în Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Corinebacteriile pot necesita între 42 și 48 de ore de incubație pe Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Anumiți streptococi, de exemplu, *Streptococcus intermedius* și *Streptococcus milleri*, necesită o atmosferă îmbogățită cu CO₂ sau anaerobă pentru creștere.

Baza Columbia Agar are un conținut relativ ridicat de carbohidrați. De aceea, streptococii beta-hemolitici pot produce o reacție hemolitică verzuie ce poate fi interpretată eronat ca alfa-hemoliză pe Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Deși o largă varietate de bacterii Gram negative și Gram pozitive pot crește într-unul din mediile conținute pe **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**, se recomandă includerea unui mediu de cultură non-selectiv pentru izolarea primară a tuturor patogenilor care pot fi prezenți într-o probă.¹⁰ **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** este un mediu non-selectiv de însămânțare inițială pe plăci frecvent utilizat, care poate fi folosit în acest scop. Pentru izolarea organismelor pretențioase, cum ar fi *Neisseria* sau *Haemophilus*, o placă cu agar de ciocolată, de exemplu, **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalX)**, trebuie inoculată, de asemenea, împreună cu proba, în caz că aceste organisme sunt estimate.

S-a raportat inhibarea anumitor *Enterobacteriaceae* și *Pseudomonas aeruginosa* pe MacConkey Agar atunci când au fost incubate în atmosferă îmbogățită cu CO₂.¹¹ De aceea, **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** nu trebuie să fie incubat în atmosferă îmbogățită cu CO₂.

Pe anumite plăci cu creștere puternică a stafilococilor pe mediul Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood și fără creștere pe MacConkey II Agar, s-a remarcat decolorarea mediului MacConkey II Agar. Acest fenomen nu are efecte negative pentru recuperarea și colorarea specifică a coloniilor de bacterii Gram negative pe MacConkey II Agar.

Deși anumite teste de diagnosticare pot fi realizate direct pe aceste medii de cultură, pentru o identificare completă a izolatelor, este necesară testarea biochimică și, dacă este indicat, testarea imunologică, utilizând culturi pure.

REFERINȚE

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.

AMBALAJ/DISPONIBILITATE

BD MacConkey II Agar / BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate) (cu 5% sânge de oaie (placă dublă))

Nr. cat.

Descriere

REF 257574

Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 20 cpu

REF 257584

Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 120 cpu

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

Pentru informații suplimentare, contactați reprezentantul local BD.



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 este o marcă comercială a American Type Culture Collection

BD, BD logo și Stacker sunt mărci comerciale ale Becton, Dickinson and Company.

© 2015 Becton, Dickinson and Company