

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

NAMENA

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

(Mac Conkey II agar / Columbia CNA II poboljšani agar sa 5% ovčije krvi) je poboljšana podloga koja se koristi za selektivnu izolaciju gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija iz kliničkih uzoraka.

PRINCIPI I OBJAŠNJENJE POSTUPKA

Mikrobiološka metoda.

MacConkey agar je jedna od najranijih formulacija (MacConkey je objavio 1900. godine) za izolaciju, kultivaciju i identifikaciju *Enterobacteriaceae* i određene organizme koji ne fermentišu. Ta podloga je kasnije izmenjena nekoliko puta.^{1,2}

Formula MacConkey II agara je osmišljena 1987. godine da poboljša inhibiciju množenja vrste *Proteus* kako bi se postigla izrazitija diferencijacija na one bakterije koje fermentišu laktozu i one koje je ne fermentišu i za izrazit rast enteričnih bakterija. Peptoni snabdevaju MacConkey II Agar hranljivim materijama. Kristalno ljubičasta boja je uključena da inhibira gram-pozitivne bakterije, posebno enterokoke i stafilokoke. Diferencijacija enteričnih mikroorganizama postiže se kombinacijom laktoze i neutralnog crvenog pH indikatora. Stvaraju se bezbojne ili ružičaste do crvene kolonije, u zavisnosti od sposobnosti izolata da fermentišu ugljene hidrate.³⁻⁵

Ellner i dr. su 1966. godine podneli izveštaj o razvoju formulacije sa krvnim agarom koji je označen kao Columbia Agar⁶. Ova podloga, koja postiže veće kolonije i bujniji rast od uporedivih baza sa krvnim agarom, koristi se za podloge koje sadrže krv i za selektivne formulacije. Ellner i dr. su otkrili da podloga sadrži 10 mg kolistina i 15 mg nalidiksične kiseline po litru u Columbia agar bazi, obogaćenoj sa 5% ovčije krvi, podstičući rast stafilokoka, hemolitičkih streptokoka i enterokoka dok inhibira rast vrsta *Proteus*, *Klebsiella* i *Pseudomonas*.⁶ Tokom godina povećana je otpornost bakterija na antimikrobne agense. Ovo naročito važi za gram-negativne bacile koji treba da se inhibiraju, ali često proizvode rast na Columbia CNA agaru sa 5% ovčije krvi. U Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Columbia CNA II poboljšani agar sa 5% ovčije krvi) uključena je mala količina aztreonama kako bi se održala dobra selektivnost ove podloge, a koncentracija nalidiksične kiseline je svedena na 5,5 mg/L kako bi se povećao oporavak gram-pozitivnih koka, naročito stafilokoka. Koncentracija kolistina ostaje nepromenjena. Aztreonam je monobaktam koji je aktivan samo protiv većine gram-negativnih bakterija, dok ne utiče na gram-pozitivne organizme.⁷⁻⁹

Ovčija krv omogućava otkrivanje hemolitičkih reakcija koje su naročito važne kao polazna tačka u dijagnozi streptokoka.¹⁰

Glavna prednost Columbia CNA II poboljšanog agara sa 5% ovčije krvi u odnosu na agar Columbia CNA sa 5% ovčije krvi je poboljšani rast stafilokoka koje se mnogo češće otkrivaju nakon 18 do 24 sata inkubacije i bolja inhibicija otpornih gram-negativnih bakterija, posebno vrste *Proteus*.

Kombinacija ove dve podloge u posudi sa dve pločice (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) se koristi za selektivnu izolaciju gram-negativnih i gram pozitivnih bakterija iz kliničkih uzoraka.

REAGENSI

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

Formule* po litru prečišćene vode

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Proizvod pankreasnog varenja želatina	17,0 g	Peptoni	20,0 g
Proizvod pankreasnog varenja kaseina	1,5	Ekstrakt kvasca	3,5
Proizvod peptičnog varenja životinjskog tkiva	1,5	Proizvod triptičkog varenja goveđeg srca	3,0
Laktoza	10,0	Kukuruzni skrob	1,0
Žučne soli	1,5	Natrijum-hlorid	5,0
Natrijum-hlorid	5,0	Kolistin	10,0 mg
Neutralna crvena boja	0,03	Nalidiksična kiselina	5,5
Kristalnojubičasto	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Ovčija krv, defibrinisana	5%
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Prilagođava se i/ili dopunjava prema potrebi da bi se zadovoljili kriterijumi funkcionisanja.

MERE OPREZA

IVD . Samo za profesionalnu upotrebu. ②

Ne koristite pločice ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikrobima, promene boje, sušenja, pucanja ili ostali znakovi pogoršanja kvaliteta.

U dokumentu **OPŠTA UPUTSTVA ZA UPOTREBU** možete naći procedure za aseptično rukovanje, biološke opasnosti i uklanjanje iskorišćenog proizvoda.

ČUVANJE I VEK TRAJANJA

Po prijemu, čuvajte pločice na tamnom mestu na temperaturi od 2°C do 8°C u prvobitnom omotu sve do upotrebe. Nemojte zamrzavati ili pregrevavati proizvod. Pločice mogu da se inokulišu do isteka roka trajanja (pogledajte nalepnicu na pakovanju) i inkubiraju onoliko koliko se preporučuje.

Pločice iz otvorenih pakovanja od 10 komada mogu da se koriste nedelju dana ukoliko se čuvaju na čistom mestu na temperaturi od 2°C do 8°C.

KORISNIČKA KONTROLA KVALITETA

Inokulišite reprezentativne uzorke sledećim sojevima (pogledajte dokument **OPŠTA UPUTSTVA ZA UPOTREBU** za više informacija). Inkubirajte pločice aerobno, poželjno je u obrnutom položaju, na temperaturi od 35°C do 37°C od 18 – 24 sata.

Sojevi	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Dobar do odličan rast; ružičaste do crvene kolonije sa talozima žuči	Potpuna inhibicija
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Dobar do odličan rast; bež do braon kolonije, množenje inhibirano	Potpuna inhibicija
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibicija (delimična do) potpuna	Dobar do odličan rast; male sive kolonije
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Potpuna inhibicija	Bele do žućkaste kolonije sa beta hemolizom
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Nije testirano	Male sivkaste kolonije; beta hemoliza
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Nije testirano	Male zelene do sive kolonije; alfa hemoliza
Nije inokulisana	Svetlo ružičasta boja, blago svetlucavo	Crvena boja, neprozirno

POSTUPAK

Obezbeđeni materijal

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (pločice **Stacker** od 90 mm). Mikrobiološki kontrolisano.

Materijal koji nije obezbeđen

Podloge za dodatne kulture, reagensi i laboratorijska oprema prema potrebi.

Tipovi uzoraka

Podloga sadržana u ovoj pločici sa dve posude se koristi za selektivnu izolaciju mnogih gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija iz svih tipova kliničkih uzoraka (takođe pogledajte odeljak **KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA PROCEDURE**).

Postupak ispitivanja

Nanesite uzorak što je pre moguće po prijemu u laboratoriju. Pločica sa nanetim uzorkom se prvenstveno koristi za izolaciju čistih kultura iz uzoraka koji sadrže mešanu floru.

Da biste inokulisali ovu pločicu sa dve posude uzorcima iz tupfera, prvo kotrljajte tupfer preko malog dela poboljšanog agara Columbia CNA II sa 5% ovčije krvi, a posle toga preko malog dela agara MacConkey II. Pomoću sveže omče za svaku podlogu, nanesite uzorak u prugama radi izolacije iz te inokulisane oblasti. Inkubirajte u vazduhu između 24 i 48 sati na temperaturi od 35°C do 37°C. Ne preporučuje se da inkubirate ovaj proizvod u aerobnoj atmosferi obogaćenoj ugljen-dioksidom pošto rezultati na agaru MacConkey mogu da se razlikuju od onih dobijenih inkubacijom u okolnom vazduhu.¹¹

Pošto postoje gram-pozitivni i gram-negativni organizmi koji su inhibirani na obe podloge ove pločice sa dve posude ili se ne razvijaju u okolnom vazduhu, preporučuje se da se obuhvate pločice koje sadrže neselektivni krvni agar, npr. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** koji je inkubiran između 24 i 48 sati na temperaturi od 35°C do 37°C u aerobnoj atmosferi obogaćenoj ugljen-dioksidom.

Rezultati

Tipični rezultati rasta na **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** su sledeći:

Organizmi	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Ružičasta do roze-crvena boja (može biti okružena zonom nataložene žuči)	Inhibicija (delimična do) potpuna
<i>Enterobacter</i>	Mukoidne, ružičaste boje	Inhibicija (delimična do) potpuna
<i>Klebsiella</i>	Mukoidne, ružičaste boje	Inhibicija (delimična do) potpuna
<i>Proteus</i>	Bezbojno, množenje inhibirano	Inhibicija (delimična do) potpuna; množenje inhibirano
<i>Salmonella</i>	Bezbojno	Potpuna inhibicija
<i>Shigella</i>	Bezbojno	Potpuna inhibicija
<i>Pseudomonas</i>	Nepravilne, bezbojne do ružičaste boje	Inhibicija (delimična do) potpuna
Stafilokoke	Delimična do potpuna inhibicija	Rast; bele do žute kolonije, male do srednje veličine, sa ili bez beta hemolize
Streptokoke	Potpuna inhibicija	Rast; kolonije majušne do srednje veličine sa ili bez beta ili alfa hemolize
Enterokoke	Delimična do potpuna inhibicija	Rast; kolonije majušne do srednje veličine; mogu imati sivkaste ivice, obično nehemolitičke

Druge gram-negativne i gram-pozitivne bakterije, koje nisu gore navedene, takođe mogu da rastu na ovoj podlozi. Za bliže detalje i tumačenje rasta, pogledajte reference.^{4,10,12}

KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA POSTUPKA

BD MacConkey II Agar je jedna od standardnih podloga koje se koriste za primarnu izolaciju kliničkih uzoraka i za mnoštvo nekliničkih materijala. Na ovoj podlozi će rasti svi mikroorganizmi vrste *Enterobacteriaceae* i mnoštvo drugih rodova gram-negativnih bakterija, npr. *Pseudomonas* i srodni rodovi. Bakterije koje ne fermentišu ili druge gram-negativne bakterije osetljive na selektivne sastojke ne rastu na ovoj podlozi. Pogledajte odgovarajuća poglavlja u referencama pre korišćenja podloge za specifične organizme.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Columbia CNA II poboljšani agar sa 5% ovčije krvi) je poboljšana selektivna podloga za izolaciju i kultivaciju mnogih aerobno rastućih gram-pozitivnih mikroorganizama, npr. streptokoka, stafilokoka, vrste *Listeria* i drugih, iz kliničkih uzoraka. Podloga omogućava brže otkrivanje stafilokoka, enterokoka i streptokoka i bolju inhibiciju gram-negativnih bakterija od agara Columbia CNA sa 5% ovčije krvi.

U internoj evaluaciji svojstava, 38 sojeva (klinički izolovani i prikupljeni sojevi) gram-pozitivnih bakterija pripadaju vrstama navedenim u Tabeli 1 i mnoge gram-negativne bakterije su testirane na rast na agaru **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)** je korišćena kao referentna podloga za rast. Pločice su inkubirane u aerobnoj atmosferi od 18 do 24 sata na temperaturi između 35°C i 37°C.

Sojevi *Proteus* koji su otporni na kinolon su potpuno inhibirani na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood ali izazivaju jak rast na MacConkey II Agar i Columbia agaru. Veličine kolonije i hemolitičke zone na Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood su uporedive sa onim na Columbia Agar. Svi gram-pozitivni sojevi izuzev *Corynebacterium diphtheriae* izazivaju rast na agaru Columbia CNA Agar Improved II sa 5% ovčije krvi u roku od 18 – 20 sati aerobne inkubacije i potpuno su inhibirane na MacConkey II agaru. *C. diphtheriae* zahteva inkubaciju u trajanju od 42 sata. Testiranje obuhvata stafilokoke koje zahtevaju inkubaciju u trajanju od dva dana na normalnom Columbia CNA agaru.

Tabela 1: Gram-pozitivne vrste testirane i izolovane na **BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood** (Columbia CNA II poboljšani agar sa 5% ovčije krvi) (aerobna inkubacija)

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

* Neophodna je inkubacija u trajanju od 48 sati na **CNA-II** i **CNA**.

Ograničenja: Gram-negativne bakterije koje ispoljavaju otpornost na selektivne sastojke mogu da rastu na ovoj podlozi.

Vrsta *Candida* i druge gljivice ne inhibiraju se na ovoj podlozi.

Iako su gram-pozitivne bakterije, aerobne spore kao što su vrste *Bacillus* mogu biti inhibirane na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Korinobakterija zahteva inkubaciju na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood u trajanju od 42 do 48 sati.

Izvesne streptokoke, npr. *Streptococcus intermedius* i *Streptococcus milleri* zahtevaju atmosferu obogaćenu ugljen-dioksidom (CO₂) ili anaerobnu atmosferu za rast.

Osnova Columbia agara ima relativno visok sadržaj ugljenih hidrata. Iz tog razloga, beta-hemolitičke streptokoke mogu da izazovu zelenkastu hemolitičku reakciju koja može biti pogrešno protumačena kao alfa hemoliza na Columbia CNA II poboljšanom agaru sa 5% ovčije krvi.

Iako će veliki broj raznovrsnih gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija rasti na jednoj od podloga sadržanih u **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**, preporučuje se da obuhvatite neselektivne podloge za primarnu izolaciju svih patogena koji mogu biti prisutni u uzorku.¹⁰ **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** je često korišćena neselektivna primarna pločasta podloga koja može da se koristi za ovu svrhu. Za izolaciju probirljivih organizama, kao što je *Neisseria* ili *Haemophilus*, ploča sa čokoladnim agarom, npr. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalEx)** takođe treba da se inokuliše uzorkom ako se očekuju takvi organizmi.

Otkriveno je da se neke bakterije vrste *Enterobacteriaceae* i *Pseudomonas aeruginosa* inhibiraju na MacConkey agaru kada se inkubiraju u atmosferi obogaćenoj CO₂.¹¹ Iz tog razloga, **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** ne treba da se inkubira u atmosferi obogaćenoj CO₂.

Na nekim pločicama sa snažnim rastom stafilokoka na podlozi Columbia CNA Agar Improved II sa 5% ovčije krvi i bez rasta na MacConkey II agaru, primećeno je nestajanje boje podloge sa MacConkey II agarom. Ovo nema negativne efekte na izolaciju i tipičnu obojenost kolonije gram-negativnih bakterija na MacConkey II agaru.

Iako određen broj dijagnostičkih ispitivanja može da se obavi direktno na ovim podlogama, za potpunu identifikaciju izolata potrebna su biohemijska i, ako je tako navedeno, imunološka ispitivanja sa čistom kulturom.

REFERENCE

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.

PAKOVANJE/DOSTUPNOST

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

Kat. br.	Opis
 257574	Pločast podloge spremne za upotrebu, 20 kom.
 257584	Pločaste podloge spremne za upotrebu, 120 kom.

DODATNE INFORMACIJE

Ako su vam potrebne dodatne informacije, obratite se lokalnom predstavniku kompanije 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 je žig organizacije American Type Culture Collection

BD, BD logotip i Stacker su žigovi kompanije Becton, Dickinson and Companyi

© 2015 Becton, Dickinson and Company