

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

AVSEDD ANVÄNDNING

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

(BD MacConkey II-agar/Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod) (dubbelplatta) är ett förbättrat medium som används för selektiv isolering av gramnegativa och grampositiva bakterier från kliniska prover.

FÖRKLARING OCH PRINCIPER FÖR METODEN

Mikrobiologisk metod.

MacConkey-agar är en av de tidigaste sammansättningarna (publicerades 1900 av MacConkey) för isolering, odling och identifiering av *Enterobacteriaceae* och vissa icke-fermenterare. Senare har detta medium modifierats flera gånger.^{1,2}

Sammansättningen i MacConkey II-agar togs fram 1987 för att förbättra inhiberingen av svärmande *Proteus*-species, för att uppnå mer definitiv differentiering av laktosfermenterare och icke-fermenterare och för överlägsen odling av tarmbakterier. I MacConkey II-agar ger peptoner näring. Kristallviolett ingår för att inhibera grampositiva bakterier, speciellt enterokocker och stafylokocker. Differentieringen av enteriska mikroorganismer uppnås genom kombinationen av laktos och den neutralröda pH-indikatorn. Färglösa eller rosa till röda kolonier uppstår beroende på förmågan hos isolatet att fermentera kolhydratet.^{3–5}

Ellner et al. rapporterade 1966 om utvecklingen av en blodagarsammansättning, vilken har betecknats Columbia-agar.⁶ Detta medium, som ger större kolonier och mer kraftig växt än andra jämförbara blodagarbaser, används för medier som innehåller blod och för selektiva sammansättningar. Ellner et al. fann att ett medium som innehåller 10 mg kolistin och 15 mg nalidixinsyra per liter i en Columbia-agarbas, som berikas med 5 % fårblod, stimulerar växt av stafylokocker, hemolytiska streptokocker och enterokocker medan växt av *Proteus*, *Klebsiella* och *Pseudomonas*-species inhiberas.⁶ Under årens lopp har bakteriernas resistens mot antimikrobiotiska medel ökat. Detta är speciellt sant för gramnegativa stavar som bör inhiberas, men ofta producerar växt på Columbia CNA-agar med 5 % fårblod. I Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod, ingår en liten mängd aztreonam för att ge en god selektivitet för det här mediet, och koncentrationen av nalidixinsyra har minskats till 5,5 mg/L för att öka detektionen av grampositiva kocker, särskilt stafylokocker, från kliniska prov.

Kolistinkoncentrationen förblev oförändrad. Aztreonam är en monobaktam som endast har aktivitet mot de flesta gramnegativa bakterierna, medan grampositiva organismer inte är påverkade.^{7–9}

Fårblod möjliggör detektion av hemolytiska reaktioner, vilket är särskilt viktigt vid presumtiv diagnos av streptokocker.¹⁰

Huvudfördelen med Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod, jämfört med Columbia CNA-agar med 5 % fårblod är den förbättrade växten av stafylokocker som oftare detekteras efter 18 till 24 timmars inkubering och bättre inhibering av resistent gramnegativa bakterier, i synnerhet *Proteus* spp.

Kombinationen av dessa två medier i en dubbelplatta (**BD MacConkey II-agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) används för selektiv isolering av gramnegativa och grampositiva bakterier från kliniska prover.

REAGENSER

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

Sammansättningar* per liter aqua purif

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Pankreatiskt spjälkat gelatin	17,0 g	Peptoner	20,0 g
Pankreatiskt spjälkat kasein	1,5	Jästextrakt	3,5
Peptiskt spjälkat djurvävnad	1,5	Tryptiskt spjälkat nöthjärta	3,0
Laktos	10,0	Majsstärkelse	1,0
Gallsalter	1,5	Natriumklorid	5,0
Natriumklorid	5,0	Kolistin	10,0 mg
Neutralrött	0,03	Nalidixinsyra	5,5
Kristallviolett	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Fårblod, defibrinerat	5 %
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

SÄKERHETSÅTGÄRDER

IVD

. Endast för professionellt bruk. ②

Plattorna får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller andra brister.

Se dokumentet **ALLMÄNNA INSTRUKTIONER FÖR ANVÄNDNING** för information om aseptiska förfaranden vid hantering, biorisker och kassering av använda produkter.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara plattorna mörkt vid 2 till 8 °C i originalförpackningen fram till dess de ska användas.

Undvik överhettning och nedfrysning. Plattorna kan inokuleras fram till utgångsdatum (se etiketten på förpackningen) och inkuberas under rekommenderad inkuberingstid.

Plattor från öppnade 10-plattsförpackningar kan användas i en vecka vid förvaring i ren miljö vid 2 till 8 °C.

KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

Inokulera representativa prover med följande stammar (se dokumentet **ALLMÄN**

BRUKSANVISNING för ytterligare information). Inkubera plattorna, helst upp- och nedvända, aerobt vid 35 – 37 °C i 18 – 24 timmar.

Stammar	MacConkey II-agar	Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	God till utmärkt växt, rosa till röda kolonier med gallprecipitat	Inhibering fullständig
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	God till utmärkt växt, beige till bruna kolonier; inhiberad svärmning	Inhibering fullständig
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibering (partiell till) fullständig	God till utmärkt växt; små grå kolonier
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibering fullständig	Vita till gulaktiga kolonier med betahemolys
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Ej testad	Små gråaktiga kolonier, betahemolys
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Ej testad	Små gröna till grå kolonier, alfa-hemolys
Ej inokulerad	Ljusrosa, något opaliserande	Röd, ogenomskinlig

FÖRFARANDE

Tillhandahållt material

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (90 mm **Stacker**-dubbelplattor). Mikrobiologiskt kontrollerade.

Material som krävs men ej medföljer

Extra odlingsmedier, reagenser och laboratorieutrustning efter behov.

Provtyper

De medier som ingår i denna dubbelplatta används för selektiv isolering av många gramnegativa och grampositiva bakterier från alla typer av kliniska prover (se också **KLINISKA PRESTANDA OCH PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR**).

Testförfarande

Stryk ut provet så snart som möjligt efter att laboratoriet tagit emot det. Plattan med utstryket används primärt för isolering av renkulturer från prover med blandflora.

För att inokulera denna dubbelplatta med prover från provtagningspinnar rullar du först pinnen över ett litet område med Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod, och sedan över ett litet område med MacConkey II-agar. Använd en ny ögla för respektive medium och stryk för isolering från de inokulerade områdena. Inkubera i rumsluft i 24 till 48 timmar i 35 – 37 °C. Det rekommenderas inte att denna produkt inkuberas i en koldioxidberikad aerob miljö eftersom resultaten för MacConkey-agaren kan avvika från de som erhålls med inkubering i rumsluft.¹¹

Eftersom det finns grampositiva och gramnegativa organismer som är inhiberade i båda medierna på denna dubbelplatta eller som inte växer i rumsluft rekommenderas det att även en icke-selektiv blodagarplatta, t.ex. en **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** som inkuberas i 24 till 48 timmar i 35 – 37 °C i en aerob miljö som berikats med koldioxid, används.

Resultat

Typiska växtresultat med **BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** är följande:

Organismer	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Rosa till rosaröda (kan vara omgivna av en zon med gallprecipitat)	Inhibering (partiell till) fullständig
<i>Enterobacter</i>	Mukoida, rosa	Inhibering (partiell till) fullständig
<i>Klebsiella</i>	Mukoida, rosa	Inhibering (partiell till) fullständig
<i>Proteus</i>	Färglösa, svärmning inhiberad	Inhibering (partiell till) fullständig, svärmning inhiberad
<i>Salmonella</i>	Färglösa	Inhibering fullständig
<i>Shigella</i>	Färglösa	Inhibering fullständig
<i>Pseudomonas</i>	Oregelbundna, färglösa till rosa	Inhibering (partiell till) fullständig
Stafylokocker	Inhibering partiell till fullständig	Växt: vita till gula, små till medelstora kolonier, med eller utan betahemolys
Streptokocker	Inhibering fullständig	Växt: mycket små till medelstora kolonier med eller utan beta- eller alfa-hemolys
Enterokocker	Inhibering partiell till fullständig	Växt: mycket små till medelstora kolonier, kan ha gråaktiga kanter, vanligtvis icke-hemolytiska

Andra gramnegativa och grampositiva bakterier, som inte anges ovan, kan också växa på medierna. För detaljer och tolkning av växt, se referenserna.^{4,10,12}

KLINISKA PRESTANDA OCH PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR

BD MacConkey II Agar är ett av de standardmedier som används för kliniska primärprov på plattor och för flera olika icke-kliniska material. På detta medium kommer alla organismer från familjen *Enterobacteriaceae* och en mångfald av andra gramnegativa stavar såsom *Pseudomonas* och besläktade genera att växa. Icke-fermenterare eller andra gramnegativa stavar som är resistent mot de selektiva beståndsdelarna växer inte på detta medium. Se respektive kapitel i referenserna innan mediet används för specifika organismer.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, är ett förbättrat selektivt medium för isolering och odling av många aerobt växande grampositiva mikroorganismer, t.ex. streptokocker, stafylokocker och *Listeria* spp., från kliniska prover. Mediet möjliggör snabbare detektion av stafylokocker, enterokocker och streptokocker, och en bättre inhibering av gramnegativa bakterier än Columbia CNA-agar med 5 % fårblod.

Vid interna prestandautvärderingar har 38 stammar (kliniska isolat och provtagningsstammar) med grampositiva bakterier som tillhör de species som nämns i tabell 1 samt många gramnegativa bakterier testats för växt på **BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)** användes som ett växtreferensmedium. Plattorna inkuberades i en aerob miljö under 18 till 24 timmar i 35 – 37 °C.

Kinolonresistenta *Proteus*-stammar inhiberades fullständigt med Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod men växte kraftigt med MacConkey II-agar och Columbia-agar.

Kolonistorlekar och hemolytiska zoner på Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod var jämförbara med resultaten på Columbia-agar. Alla grampositiva stammar förutom *Corynebacterium diphtheriae* växte på Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod inom 18 – 20 timmar med aerob inkubering och inhiberades fullständigt på MacConkey II-agar. *C. diphtheriae* behövde 42 timmars inkubering. Testningen inkluderade stafylokocker som behövde 2 dagars inkubering på vanlig Columbia CNA-agar.

Tabell 1: Grampositiva species testades och återfanns på BD Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod (aerob inkubering)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus</i> grupp C
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus</i> grupp 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 timmars inkubering krävdes för detektion på **CNA-II** och **CNA**.

Begränsningar: Gramnegativa bakterier, som uppvisar resistens för de selektiva beståndsdelarna, kan växa på detta medium.

Candida-species och andra svampar inhiberas inte på detta medium.

Fastän de är grampositiva bakterier kan aeroba sporbildare såsom *Bacillus* spp., inhiberas på Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod.

Corynebakterier kan behöva 42 till 48 timmars inkubering på Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod.

Vissa streptokocker, t.ex. *Streptococcus intermedius* och *Streptococcus milleri* behöver en koldioxidberikad eller anaerob miljö för växt.

Columbia-agarbasen har ett relativt högt kolhydratinnehåll. Därför kan betahemolytiska streptokocker ge en grönaktig hemolytisk reaktion som kan förväxlas med alfa-hemolys på Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod.

Även om en rad gramnegativa och grampositiva bakterier växer på något av medierna i **BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** rekommenderas det att även ett icke-selektivt medium används för primär isolering av alla patogener som kan förekomma i ett prov.¹⁰ **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** är ett ofta använt icke-selektivt primärt plattmedium som kan användas för detta ändamål. För isolering av svårodlade organismer, exempelvis *Neisseria* eller *Haemophilus*, bör även en chokladagarplatta, t.ex. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitalX)** (BD chokladagar (GC II-agar med IsoVitalX)) inokuleras med provet om dessa organismer förväntas förekomma.

Det har förekommit rapporter att vissa *Enterobacteriaceae* och *Pseudomonas aeruginosa* inhiberas på MacConkey-agar vid inkubering i en CO₂-berikad miljö.¹¹ Därför ska **BD MacConkey II Agar/Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** inte inkuberades i en CO₂-berikad miljö.

På vissa plattor med stark växt av stafylokocker på Columbia CNA-agar, förbättrad II, med 5 % fårblod, och ingen växt på MacConkey II-agar har bleknande färger hos MacConkey II-agarmediet observerats. Detta har ingen negativ effekt på påvisandet och den typiska kolonifärgningen av gramnegativa bakterier på MacConkey II-agar.

Fastän vissa diagnostiska tester kan utföras direkt på dessa medier är biokemisk och, om så angetts, immunologisk testning med renkulturer nödvändig för fullständig identifiering av isolaten.

REFERENSER

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.

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

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

Kat. nr.	Beskrivning
REF 257574	Färdiga odlingsplattor, 20 st. per förpackning
REF 257584	Färdiga odlingsplattor, 120 st. per förpackning

YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.



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 är ett varumärke som tillhör American Type Culture Collection

BD, BD:s logotyp och Stacker är varumärken som tillhör Becton, Dickinson and Company.

© 2015 Becton, Dickinson and Company