

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

### **NAMJENA**

**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** (agar BD MacConkey II / poboljšani agar Columbia CNA II s 5% ovčje krvi (dvostruka ploča)) poboljšana je podloga koja se koristi za selektivnu izolaciju iz gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija iz kliničkih uzoraka.

### **NAČELA I OBJAŠNJENJE POSTUPKA**

Mikrobiološka metoda.

MacConkey Agar jedna je od najranijih formula podloge (objavio ju je 1900. MacConkey) za izolaciju, uzgoj i identifikaciju *Enterobacteriaceae* i određenih nefermentirajućih bakterija. Ta je podloga naknadno izmijenjena nekoliko puta.<sup>1,2</sup>

Formula za MacConkey II Agar osmišljena je 1987. da poboljša inhibiciju množenja vrsta *Proteus* radi dobivanja konačne diferencijacije na one bakterije koje fermentiraju laktozu i one koje je ne fermentiraju i za izrazit rast enterobakterija. Peptoni snabdijevaju agar MacConkey II Agar hranjivim tvarima. Kristalno ljubičasta boja služi inhibiciji gram-pozitivnih bakterija, osobito enterokoka i stafilokoka. Diferencijacija enteričnih mikroorganizama postiže se kombinacijom laktoze i neutralnog crvenog pH indikatora. Stvaraju se bezbojne ili ružičaste do crvene kolonije, ovisno o sposobnosti izolata da fermentira ugljikohidrate.<sup>3-5</sup>

Godine 1966. Ellner i dr. prijavili su razvoj nove formule krvnog agara koji je nazvan Columbia Agar<sup>6</sup> Ova podloga na kojoj se dobivaju veće kolonije i bujniji rast nego na usporednim bazama krvnih agara, koristi se za podloge koje sadrže krv i za selektivne formule. Ellner i dr. otkrili su da podloga koja sadrži 10 mg kolistina i 15 mg nalidiksične kiseline po litri u agarnoj bazi Columbia, obogaćena s 5% ovčje krvi, potiče rast stafilokoka, hemolitičkih streptokoka i enterokoka, a inhibira rast vrsta *Proteus*, *Klebsiella* i *Pseudomonas*.<sup>6</sup> Tijekom godina, povećala se otpornost bakterija na protumikrobne agense. To je posebno svojstveno za gram-negativne štapiće koji se trebaju inhibirati, no često omogućuju rast na agaru Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood. U agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, mala količina aztreonama održava dobru selektivnost podloge, a koncentracija nalidiksične kiseline smanjena je na 5,5 mg/L kako bi se povećala izolacija gram-pozitivnih koka, posebno stafilokoka. Koncentracija kolistina ostala je ista. Aztreonam je monobaktam koji djeluje samo protiv većine gram-negativnih bakterija, dok na gram-pozitivne organizme ne djeluje.<sup>7-9</sup> Ovčja krv omogućuje otkrivanje hemolitičkih reakcija koje su osobito važne u vjerojatnoj dijagnozi streptokoka.<sup>10</sup>

Glavna prednost agara Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood u odnosu na agar Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood poboljšani je rast stafilokoka koji se češće otkrivaju nakon 18 do 24 sata inkubacije te bolja inhibicija gram-negativnih bakterija, posebno *Proteus* spp.

Kombinacija ove dvije podloge na dvostrukoj ploči (**BD MacConkey II Agar / agar Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) koristi se za selektivnu izolaciju iz gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija iz kliničkih uzoraka.

## REAGENSI

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

Formule\* po litri pročišćene vode

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Pankreatična digestija želatine	17,0 g	Peptoni	20,0 g
Pankreatična digestija kazeina	1,5	Ekstrakt kvasca	3,5
Peptična digestija životinjskog tkiva	1,5	Triptična digestija goveđeg srca	3,0
Laktoza	10,0	Kukuruzni škrob	1,0
Žučne soli	1,5	Natrijev klorid	5,0
Natrijev klorid	5,0	Kolistin	10,0 mg
Neutralna crvena boja	0,03	Nalidiksična kiselina	5,5
Kristalno ljubičasta boja	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Ovčja krv, defibrirana	5%
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

\*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

## MJERE OPREZA

**IVD** . Samo za profesionalnu primjenu. 

Ne upotrebljavajte petrijeve zdjelice ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikrobima, promjene boje, sušenja, pucanja ili ostali znakovi pogoršanja kvalitete.

Pogledajte dokument **OPĆE UPUTSTVO ZA UPORABU** o postupcima aseptičnog rukovanja, biološkim opasnostima i odlaganju iskorištenog proizvoda.

## ČUVANJE I ROK VALJANOSTI

Po primitku pohranite pločice na tamnom mjestu pri temperaturi od 2 do 8°C u originalnom pakiranju do trenutka upotrebe. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Pločice se mogu inokulirati do datuma isteka valjanosti (pogledajte naljepnicu na pakiranju) te inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije.

Pločice iz otvorenih pakiranja po 10 pločica mogu se koristiti tjedan dana ako se čuvaju na čistom mjestu pri temperaturi od 2 do 8°C.

## KORISNIČKA KONTROLA KVALITETE

Inokulirajte reprezentativne uzorke sa sljedećim sojevima (detalje potražite u dokumentu **OPĆE UPUTSTVO ZA UPORABU**). Po mogućnosti, inkubirajte pločice aerobno pri temperaturi od 35 do 37°C tijekom 18 – 24 h u okrenutom položaju.

Sojevi	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Dobar do odličan rast; kolonije ružičaste do crvene s nataloženom žuči	Potpuna inhibicija
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Dobar do odličan rast; kolonije bež do smeđe, množenje inhibirano	Potpuna inhibicija
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	(Djelomična do) potpuna inhibicija	Dobar do odličan rast; male sive kolonije
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Potpuna inhibicija	Bijele do žućkaste kolonije s beta-hemolizom
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Nije ispitano	Male sivkaste kolonije; beta-hemoliza
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Nije ispitano	Male zelene do sive kolonije; alfa-hemoliza
Nije inokulirano	Svijetlo ružičasta boja, blago svjetlucavo	Crveno, neprozirno

## POSTUPAK

### Priloženi materijal

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

## Materijal koji nije priložen

Dodatne hranjive podloge, reagensi i laboratorijska oprema prema potrebi.

## Vrste uzoraka

Podloga na ovoj dvostrukoj ploči koristi se za selektivnu izolaciju brojnih gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija iz svih vrsta kliničkih uzoraka (također pogledajte **KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA POSTUPKA**).

## Postupak ispitivanja

Razmažite uzorak odmah po primitku u laboratorij. Pločica s razmazom primarno se koristi za izolaciju čistih kultura iz uzoraka koji sadrže miješanu floru.

Za inokulaciju ove dvostruke ploče uzorcima briseva, prvo provrtite bris na malom području agara Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, a nakon toga na malom području s agarom MacConkey II Agar. Pomoću svježe ušice za svaku podlogu, razmažite radi izolacije od inokuliranih područja. Inkubirajte na sobnom zraku 24 do 48 sati na 35 – 37°C. Ne preporučuje se inkubacija ovog proizvoda u aerobnoj atmosferi obogaćenoj ugljičnim dioksidom jer se rezultati na agaru MacConkey Agar mogu razlikovati od onih dobivenih inkubacijom na sobnom zraku.<sup>11</sup>

Budući da postoje gram-pozitivni i gram-negativni organizmi inhibirani na obje podloge ove dvostruke ploče ili ne rastu na sobnom zraku, preporučuje se uključivanje neselektivnih pločica krvnog agara, npr., agara **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** koji se inkubira 24 do 48 sati na 35 – 37°C u aerobnoj atmosferi obogaćenoj ugljičnim dioksidom.

## Rezultati

Ovo su uobičajeni rezultati rasta agara **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**:

Organizmi	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Ružičaste do ružičasto crvene kolonije (mogu biti okružene područjem s nataloženom žuči)	(Djelomična do) potpuna inhibicija
<i>Enterobacter</i>	Mukoidne, ružičaste kolonije	(Djelomična do) potpuna inhibicija
<i>Klebsiella</i>	Mukoidne, ružičaste kolonije	(Djelomična do) potpuna inhibicija
<i>Proteus</i>	Bezbojne kolonije, inhibirano množenje	(Djelomična do) potpuna inhibicija; inhibirano množenje
<i>Salmonella</i>	Bezbojna	Potpuna inhibicija
<i>Shigella</i>	Bezbojna	Potpuna inhibicija
<i>Pseudomonas</i>	Neppravilne, bezbojne do ružičaste kolonije	(Djelomična do) potpuna inhibicija
Stafilokoki	Djelomična do potpuna inhibicija	Rast; bijele do žute, male do srednje velike kolonije, s hemolizom ili bez nje
Streptokoki	Potpuna inhibicija	Rast; sitne do srednje velike kolonije, s beta ili alfa-hemolizom ili bez nje
Enterokoki	Djelomična do potpuna inhibicija	Rast; sitne do srednje velike kolonije; mogu imati sivkaste granice, obično bez hemolize

Druge gram-negativne i gram-pozitivne bakterije koje nisu navedene na gornjem popisu također mogu rasti na ovoj podlozi. Za pojedinosti i interpretaciju rasta pogledajte reference.<sup>4,10,12</sup>

## KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA POSTUPKA

**BD MacConkey II Agar** jedna je od standardnih podloga koje se koriste za primarnu izolaciju kliničkih uzoraka i za mnoštvo nekliničkih materijala. Na ovoj će podlozi rasti svi organizmi vrste *enterobakterija* i mnoštvo drugih gram-negativnih sojeva, npr. bakterije *Pseudomonas* i srodni rodovi. Na ovoj podlozi ne mogu rasti bakterije koje ne fermentiraju ili drugi gram-negativni rodovi osjetljivi na selektivne sastojke. Pogledajte odgovarajuća poglavlja u referencama prije korištenja podloge za određene organizme.<sup>4,10,12</sup>

**BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood** poboljšana je selektivna podloga za izolaciju i uzgoj mnogih aerobno rastućih gram-pozitivnih mikroorganizama, npr. streptokoka, stafilokoka, *Listeria* spp i drugih, iz kliničkih uzoraka. Podloga omogućuje bržu detekciju stafilokoka, enterokoka i streptokoka i bolju inhibiciju gram-negativnih bakterija od agara Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

U analizi interne učinkovitosti, za 38 sojeva (klinički izolati i sojevi uzorka) gram-pozitivnih bakterija iz vrsta navedenih u Tablici 1 i mnoge gram-negativne bakterije ispitan je 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) korišten je za rast referentne podloge. Ploče su inkubirane u aerobnoj atmosferi 18 do 24 sata na 35 – 37°C.

Sojevi *Proteus* otporni na kinolon potpuno su inhibirani na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, ali pokazale su velik rast na agaru MacConkey II Agar i Columbia Agar. Veličine kolonija i hemolitičke zone na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood bile su usporedive s onima na agaru Columbia Agar. Svi gram-pozitivni sojevi osim *Corynebacterium diphtheriae* stvarali su rast na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood u roku od 18 do 20 sati aerobne inkubacije i potpuno su inhibirane na agaru MacConkey II Agar. Za *C. diphtheriae* bilo je potrebno 42 sata inkubacije. Ispitivanje je uključivalo stafilokoke kojima je trebalo 2 dana inkubacije na uobičajenom agaru Columbia CNA Agar.

**Tablica 1:** Gram-pozitivne vrste ispitane i izolirane na agaru BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (aerobna inkubacija)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus</i> skupine C
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus</i> skupine 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 sati inkubacije potrebno za detekciju na **CNA-II** i **CNA**.

**Ograničenja:** Na ovoj podlozi mogu rasti gram-negativne bakterije koje pokazuju rezistentnost na selektivne sastojke.

Vrste *Candida* i druge gljivice nisu inhibirane na ovoj podlozi.

Iako su to gram-pozitivne bakterije, aerobne, stvaraju spore, kao što su *Bacillus* spp., može ih se inhibirati na poboljšanom agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Za korinebakterije (*Corynebacteria*) možda će biti potrebno 42 do 48 sati inkubacije agara Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Određeni streptokoki, npr. *Streptococcus intermedius* i *Streptococcus milleri* za rast je potrebna atmosfera obogaćena s CO<sub>2</sub> ili anaerobna atmosfera.

Baza Columbia Agar ima relativno visok udio ugljikohidrata. Stoga, beta-hemolitički streptokoki mogu stvoriti zelenkastu hemolitičku reakciju koja se može pogrešno interpretirati kao alfa-hemoliza na agaru Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Iako će mnoge gram-negativne i gram-pozitivne bakterije rasti na jednoj od podloga agara **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II (Biplate)**, preporučuje se uključivanje neselektivne podloge za primarnu izolaciju svih patogena koji su možda prisutni u uzorku.<sup>10</sup> **Agar BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** često se koristi kao neselektivna podloga primarne ploče primjerena za ovu svrhu. Za izolaciju zahtjevnih organizama, kao što su *Neisseria* ili *Haemophilus*, također je potrebno inokulirati ploču čokoladnog agara, npr. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)** (čokoladni agar **BD (agar GC II koji uključuje IsoVitaleX)**) s uzorkom ako se očekuju ti organizmi.

Prijavljeno je da se neki organizmi *Enterobacteriaceae* i *Pseudomonas aeruginosa* inhibiraju na agaru MacConkey Agar kada se inkubiraju u atmosferi obogaćenoj s CO<sub>2</sub>.<sup>11</sup> Stoga se **agar BD**

**MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** treba inkubirati u atmosferi obogaćenoj s CO<sub>2</sub>.

Na nekim pločama s jakim rastom stafilokoka na podlozi agara Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood i bez rasta na agaru MacConkey II Agar, uočeno je blijeđenje boje podloge agara MacConkey II Agar. To nema nikakav negativan učinak na izolaciju i uobičajenu boju kolonije gram-negativnih bakterija na agaru MacConkey II Agar.

Iako se određeni broj dijagnostičkih ispitivanja može napraviti direktno na toj podlozi, za potpunu identifikaciju izolata potrebna su biokemijska i, ako je tako navedeno, imunološka ispitivanja s 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, 9<sup>th</sup>ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup> 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, 9<sup>th</sup>ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Mazura-Reetz, G. T. Neblett, and J. M. Galperin. 1979. MacConkey Agar: CO<sub>2</sub> 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.

## AMBALAŽA/DOSTUPNOST

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

**Kat. br.**

**Opis**

**REF** 257574

Pločaste podloge spremne za upotrebu, cpu 20

**REF** 257584

Pločaste podloge spremne za upotrebu, cpu 120

## DODATNE INFORMACIJE

Dodatne informacije zatražite od lokalnog predstavnika tvrtke 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 zaštitni znak organizacije American Type Culture Collection

BD, logotip BD i Stacker zaštitni su znaci tvrtke Becton, Dickinson and Company

© 2015 Becton, Dickinson and Company