



BD CLED Agar (Bevis)

НАЗНАЧЕНИЕ

BD CLED Agar (Bevis) (агар CLED по Бевису) — это модификация агара бессолевой лактозной питательной среды с цистином (CLED). Данная дифференциальная среда культивирования используется для изоляции и подсчета бактерий в моче.

ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод.

В 1960 году издание Sandys сообщило о разработке нового метода предотвращения роста видов *Proteus* в твердой среде с помощью ограничения электролитов в среде культивирования, которая в последствии была изменена несколько раз для использования при культивировании мочи.¹⁻³ Она разрабатывалась как среда агара бессолевой лактозной питательной среды с цистином (CLED) и была признана оптимальной для методик глубокого посева и уринарной бактериологии. Бевис модифицировал среду, добавив в нее индикатор Андраде (кислый фуксин).⁴ Сочетание двух pH-индикаторов, бромтимолового синего и кислого фуксина, позволяет лучше дифференцировать микроорганизмы по окраске колоний и среды.^{4,5}

В агаре CLED по Бевису **BD CLED Agar (Bevis)** источниками азота служат желатиновые и казеиновые пептоны, а источником питательных веществ является мясной экстракт. Лактоза выполняет функции источника энергии для микроорганизмов, которые могут использовать ее с помощью ферментирующего механизма. Цистин позволяет расти кишечным палочкам «карликовыми колониями». Бромтимоловый синий и кислый фуксин используются в качестве системы индикатора pH для отличия микроорганизмов, ферментирующих лактозу, от микроорганизмов, не ферментирующих лактозу. Источники электролита уменьшены для сокращения роста видов *Proteus*.

РЕАГЕНТЫ

BD CLED Agar (Bevis)

Рецептура* на литр очищенной воды

Желатиновый пептон	4,0 г
Казеиновый пептон	4,0
Мясной экстракт	3,0
Лактоза	10,0
L-цистин	0,13
Бромтимоловый синий	0,02
Индикатор Андраде (кислый фуксин)	0,1
Агар	15,0

pH 7,5 +/- 0,2

* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

IVD Только для профессионального применения. ⓧ

Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта.

Прочитайте документ **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**, в котором приведено описание асептических методов работы, биологических опасностей и утилизации использованных продуктов.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

После получения храните чашки в темноте при температуре от 2 до 8 °С в оригинальной обертке до начала использования. Избегайте замораживания и перегрева. Чашки могут быть засеяны до даты истечения срока годности (см. этикетку на упаковке) и инкубированы в течение рекомендованного времени инкубации.

Чашки из открытых стопок по 10 чашек могут использоваться в течение одной недели при условии хранения с соблюдением чистоты при температуре от 2 до 8 °С.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Засейте репрезентативные образцы следующими штаммами (подробные сведения см. в документе **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**). Инкубируйте чашки при 35 ± 2 °С в аэробной атмосфере.

Проверьте чашки через 18 – 24 ч на интенсивность роста, пигментацию, размер колонии и ингибирование роста/распределения видов *Proteus*.

Штаммы	Результаты роста
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Колонии от средних до крупных оранжево-красного цвета с ореолами от розового до красного цвета
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Колонии от средних до крупных серо-голубого цвета; рост частично или полностью ингибируется
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Колонии от небольших до средних от белого до желтого цвета с ореолами от розового до красного цвета
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Средние колонии желто-золотистого цвета с розовыми ореолами
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Колонии от небольших до средних бледно-розового цвета с розовыми ореолами
Незасеянные	Синий

МЕТОДИКА

Поставляемые материалы

BD CLED Agar (Bevis), поставляется в чашках **Stacker** 90 мм. Свободные от микроорганизмов.

Непредоставляемые материалы

Дополнительная питательная среда, реагенты и лабораторное оборудование по мере необходимости.

Типы образцов и взятие образцов

Эта среда используется исключительно для подсчета и дифференцирования бактерий в моче. Может использоваться средняя порция мочи или моча из катетера, а также моча, полученная при надлобковой пункции мочевого пузыря (см. также **ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ**). При сборе образцов мочи соблюдайте асептические методики работы. Мочу следует наносить штрихами прямо на среду (не позднее чем через 2 ч после сбора) или хранить в холодильнике (не дольше 24 ч) для предотвращения чрезмерного роста возбудителей инфекции или загрязнений до посева на среду.^{6,7}

Методика тестирования

Возьмите образец неразбавленной, хорошо перемешанной мочи с помощью калиброванной петли (0,01 или 0,001 мл). Убедитесь в правильности нанесения образца на петлю. Выполните посев образца вниз от середины чашки одним штрихом, из которого затем выполняется дополнительное распределение посевной культуры.^{6,7} Инкубируйте чашки при температуре окружающей среды 35 ± 2 °С в течение 18 – 24 ч.

Результаты

Типичный вид колонии в агаре CLED по Бевису **BD CLED Agar (Bevis)**:

Микроорганизмы	Результаты роста
<i>Escherichia coli</i>	Колонии от оранжево-красного до красного цвета с розовыми ореолами
<i>Proteus mirabilis</i>	Прозрачные колонии от голубовато-зеленого цвета
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Слизеподобные колонии серо-зеленого или от оранжевого до голубого цвета.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Гладкие непрозрачные колонии желто-золотистого цвета с розовыми ореолами
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Гладкие колонии бледно-розового цвета с розовыми ореолами
<i>Enterococcus faecalis</i>	Небольшие непрозрачные колонии от желтого до оранжевого цвета с небольшими ореолами розового цвета

Подсчет и интерпретация результатов

Подсчитайте число колоний (КОЕ) в чашке. Если использовалась петля объемом 0,01 мл, каждая образовавшаяся колония соответствует 100 КОЕ/мл; при использовании петли объемом 0,001 мл каждая колония соответствует 1000 КОЕ/мл мочи.^{6,7}

Средняя порция мочи и моча из катетера. Согласно современным рекомендациям один изолят плотностью $\geq 10^5$ КОЕ/мл свидетельствует о наличии инфекции, плотность менее 10^5 КОЕ/мл указывает на наличие уретральной или вагинальной контаминации, а при плотности от 10^4 до 10^5 КОЕ/мл требуется повторная оценка на основе клинических данных.^{6,7}

Контаминирующие бактерии обычно проявляются в небольших количествах с разнообразной морфологией колоний.

Моча, полученная при надлобковой пункции мочевого пузыря. Поскольку у неинфицированных пациентов мочевого пузыря стерилен, любое значение числа КОЕ свидетельствует о наличии инфекции.

Патогенные микроорганизмы мочи обычно сопровождаются большими количественными значениями при постоянной морфологии колоний и должны быть пересеяны непосредственно в обычную среду для выявления и проверки на чувствительность.^{6,7,9}

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Агар CLED по Бевису **BD CLED Agar (Bevis)** позволяет выделять из образцов мочи и подсчитывать многие аэробные микроорганизмы, такие как *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* и другие неферментирующие грамотрицательные палочки, энтерококки, стафилококки, виды *Candida* и многие другие.

Результаты определения эффективности

Внутреннее тестирование агара CLED по Бевису **BD CLED Agar (Bevis)** проводилось с использованием штаммов *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus agalactiae* и *Candida albicans*.⁸ Большинство из них являлись коллекционными штаммами, но также было включено и некоторое количество изолятов. В качестве эталонной среды использовался колумбийский агар с 5 % овечьей крови **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**. После 20 ч инкубации при температуре 35 ± 2 °C все штаммы *Enterobacteriaceae* и *C. albicans* проявили очень хороший рост на среде и дали ожидаемые цветовые реакции. Рост *S. agalactiae* был в пределах допустимого, с колониями от микроскопического до небольшого размера. Более подробная информация о результатах представлена далее:

Виды микобактерий	Результаты на агаре BD CLED Agar (Bevis)
<i>Candida albicans</i>	Колонии беловатого цвета от микроскопического до небольшого размера на синей среде
<i>Citrobacter freundii</i>	Красные колонии на красной среде
<i>Enterobacter cloacae</i>	Красные колонии на красной среде
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Красные колонии на красной среде
<i>Proteus mirabilis</i>	Сероватые колонии на синей среде; рост частично ингибирован
<i>Proteus vulgaris</i>	Сероватые колонии на синей среде; рост частично ингибирован
<i>Providencia stuartii</i>	Бледно-голубые колонии на синей среде
<i>Salmonella Typhimurium</i>	Бледно-голубые прозрачные колонии на синей среде
<i>Serratia liquefaciens</i>	Серовато-белые колонии на синей среде
<i>Shigella sonnei</i>	Бледно-голубые прозрачные колонии на синей среде
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Колонии от микроскопического до небольшого размера с розовыми ореолами на красной среде

Ограничения применения методики

Стрептококки и другие микроорганизмы, которым требуется кровь или сыворотка для роста, могут быть восстановлены в этой среде только на достаточном уровне, или может потребоваться дополнительная инкубация. Поэтому образец нужно также культивировать на пластинке с кровяным агаром, если ожидается появление таких микроорганизмов.

Патогенные мочеполовые микроорганизмы, такие как *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* или другие микроорганизмы, требовательные к питательной среде, не будут расти в этой среде. См. справочные материалы по соответствующим методикам обнаружения этих микроорганизмов.⁶

Несмотря на то, что дифференцирование на основании ферментации лактозы и определенных диагностических тестов можно выполнять непосредственно на этой среде, для полной идентификации необходимо провести биохимическое и, если показано, иммунологическое тестирование с использованием чистых культур.⁹

Агар CLED по Бевису CLED Agar (Bevis) не следует инкубировать более 24 ч, поскольку это может привести к неправильным цветовым реакциям.

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Sandys, G.H. 1960. A new method of preventing swarming of *Proteus* sp. with a description of a new medium suitable for use in routine laboratory practice. J. Med. Lab. Technol. 17:224-233.
2. Mackey, J.P., and G.H. Sandys. 1965. Laboratory diagnosis of infection of the urinary tract in general practice by means of a dip-inoculum transport medium. Br. Med. J. 2:1286-1288.
3. Mackey, J.P., and G.H. Sandys. 1966. Diagnosis of urinary infections. Br. Med. J. 1:1173.
4. Bevis, T.D. 1968. A modified electrolyte deficient culture medium. Med. Lab. Technol. 25: 38-41.
5. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation – cultivation – identification - maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 65-68. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
6. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Clarridge, J.E., M.T. Pezzlo, and K.L. Vosti. 1987. Cumitech 2A, Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Coordinating ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Данные из архива. Компания BD Diagnostic Systems Europe, г. Гейдельберг, Германия.

9. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

УПАКОВКА И НАЛИЧИЕ

BD CLED Agar (Bevis)

№ по каталогу 255529 Готовая к использованию среда в чашках; 20 чашек

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для получения дополнительной информации обратитесь к местному представителю компании 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 is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2012 BD