

BD CLED Agar (Bevis)

KULLANIM AMACI

BD CLED Agar (Bevis) değiştirilmiş bir CLED (Sistin-Laktoz-Elektrolit Bulunmayan) Agardır. İdrarda bulunan bakterilerin izole edilmesi ve sayılmasında kullanılmaya yönelik diferansiyel bir kültür besiyeridir.

PROSEDÜR İLKELERİ VE AÇIKLAMASI

Mikrobiyolojik yöntem.

Sandys 1960'da, idrar kültüründe kullanılmaya yönelik olarak daha sonraları birkaç kez değiştirilen kültür besiyerinde elektrolitleri kısıtlayarak *Proteus*'un katı besiyerinde kümelenmesini önleyen yeni bir yöntemin geliştirildiğini bildirmiştir.¹⁻³ Sistin-Laktoz-Elektrolit Bulunmayan (CLED) besiyeri olarak adlandırılmış ve batırma-inokulum teknikleri ve genel olarak üriner bakteriyoloji için ideal olduğu bildirilmiştir. Bevis besiyerine Andrade indikatörü (asit fuksin) ekleyerek besiyerini modifiye etmiştir.⁴ İki pH indikatörü, bromtimol mavisi ve asit fuksinin kombinasyonu koloni ve besiyeri renklenmesi vasıtasıyla organizmaların geliştirilmiş bir ayrıştırmasına imkan verir.^{4,5}

BD CLED Agar'da (Bevis), jelatin ve kazein peptonları azot kaynağıdır, ve sığır eti ekstraktı ilave besinleri sağlar. Laktoz, fermentatif bir mekanizma yoluyla bundan yararlanabilen organizmalar için enerji kaynağı sağlamak için eklenmiştir. Sistin "cüce koloni" koliformların gelişmesine olağan sağlar. Laktoz fermenterlerini laktozu fermente etmeyenlerden ayırtırmak için bromtimol mavisi ve asit fuksin pH indikatör sistemi olarak kullanılmıştır. Elektrolit kaynakları *Proteus* türlerinin kümelenmesini en aza indirmek üzere indirgenmiştir.

REAKTİFLER

BD CLED Agar (Bevis)

1 Litre Saf Su için Formül*

Jelatin Pepton	4,0 g
Kazein Pepton	4,0
Sığır Eti Ekstraktı	3,0
Laktoz	10,0
L-Sistin	0,13
Bromtimol Mavisi	0,02
Andrade İndikatörü (Asit Fuksin)	0,1
Agar	15,0

pH 7,5 ± 0,2

*Performans kriterlerini karşılamak üzere gereken şekilde ayarlanmış ve/veya desteklenmiştir.

ÖNLEMLER

IVD . Yalnızca profesyonel kullanım içindir. ⓧ

Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma, çatlama veya diğer bozulma belirtileri görülen plakları kullanmayın.

Aseptik kullanım prosedürleri, biyolojik tehlikeler ve kullanılmış ürünün atılmasıyla ilgili olarak

GENEL KULLANIM TALİMATLARI belgesine bakın.

SAKLAMA VE RAF ÖMRÜ

Alındıktan sonra plakları kullanana kadar orijinal kaplı ambalajında karanlıkta 2 ila 8 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve aşırı ısıtmaktan kaçının. Plaklar son kullanma tarihine kadar (ambalaj etiketine bakın) ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir.

10 plaklık açılmış yığınardan alınan plaklar temiz bir alanda, 2 ila 8 °C'de saklandığında bir hafta kullanılabilir.

KULLANICI TARAFINDAN KALİTE KONTROLÜ

Temsili örnekleri aşağıdaki suşlar ile inoküle edin (detaylar için, bkz. **GENEL KULLANIM TALİMATLARI** belgesi). Plakları 35 ± 2 °C'de aerobik atmosferde inkübe edin.

Plakları 18 ila 24 saatte gelişim miktarı, pigmentasyon, koloni boyutu ve *Proteus* kümelenme/yayılmasının inhibisyonu açısından inceleyin.

Suşlar	Gelişim Sonuçları
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Orta büyüklükte ila büyük, pembe ila kırmızı haleleri olan turuncu-kırmızı koloniler
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Orta büyüklükte ila büyük renksiz ila gri-mavi koloniler, kümelenme kısmen ila tamamen inhibe edilmiş
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Küçük ila orta büyüklükte beyaz ila sarı koloniler, pembe ila kırmızı haleler
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Orta büyüklükte, gül rengi haleleri olan altın rengi ile sarı koloniler
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Küçük ila orta büyüklükte beyaz ila uçuk gül rengi koloniler, pembe haleler
İnoküle edilmemiş	Mavi

PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler

90 mm **Stacker** plaklar içerisinde sağlanan **BD CLED Agar (Bevis)**. Mikrobiyolojik açıdan kontrol edilmiştir.

Sağlanmayan Malzemeler

Yardımcı kültür ortamı, reaktifler ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Örnek Tipleri ve Örneklerin Toplanması

Bu besiyeri özellikle idrarda bakterilerin sayılması ve ayrıştırılması için kullanılır. Orta kısım veya kateter idrar veya suprapubik mesane delme yoluyla alınan idrar kullanılabilir (aynı zamanda bkz.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR). İdrar örneklerinin alınmasında aseptik teknikleri uygulayın. İdrar alındıktan en fazla 2 saat sonra doğrudan besiyeri üzerine sürme yöntemi kullanılarak ekim yapılmalıdır veya bu besiyerinin inokülasyonundan önce enfeksiyöz ajanların veya kontaminantların aşırı gelişmesinden kaçınmak için buzdolabında saklanmalıdır (en fazla 24 saat).^{6,7}

Test Prosedürü

Kalibre edilmiş öze kullanarak seyreltilmemiş, iyi karıştırılmış idrardan örnek alın (0,01 veya 0,001 ml). Özeye uygun miktarda örnek alınmasını sağlayın. Örneği plağın ortasına tek bir sürme ile inoküle ederek buradan inokülumun ilave yaymasını gerçekleştirin.^{6,7} Plakları ortam havasında 35 ± 2 °C'de 18 ila 24 saat inkübe edin.

Sonuçlar

BD CLED Agar'da (Bevis) tipik koloni görünüşü aşağıdaki gibidir:

Organizmalar	Gelişim Sonuçları
<i>Escherichia coli</i>	Gül rengi ila pembe haleleri olan turuncu-kırmızı ila kırmızı koloniler
<i>Proteus mirabilis</i>	Mavi-yeşil, şeffaf koloniler
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Gri-yeşil veya turuncu ila mavi, mükoid koloniler
<i>Staphylococcus aureus</i>	Düzgün, opak, gül rengi haleleri olan altın rengi-sarı koloniler
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Düzgün beyaz ila uçuk gül rengi koloniler, pembe haleler
<i>Enterococcus faecalis</i>	Küçük opak sarı ila turuncu koloniler, küçük gül rengi ila pembe haleler

Sonuçların Hesaplanması ve Yorumlanması

Plaktaki kolonileri (cfu) sayın. 0,01 ml öze kullanıldığında, oluşan her koloni 100 CFU/ml'yi temsil eder; 0,001 ml öze kullanıldığında, her koloni 1000 CFU/ml idrara karşılık gelir.^{6,7}

Orta kısım ve kateter idrarı: Mevcut rehberler $\geq 10^5$ CFU/ml yoğunlukta tek bir izolatın enfeksiyonu gösterdiğini, $<10^5$ cfu/ml'nin üretral veya vajinal kontaminasyonu gösterdiğini ve 10^4 ila 10^5 cfu/ml arasının klinik bilgilere göre yeniden değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.^{6,7}

Kontaminant bakteriler genellikle değişen koloni morfolojilerinde düşük sayılarda görülür.

Suprapubik mesane delme yoluyla alınan idrar: Enfekte olmamış bireylerde mesane steril olduğundan, saptanan herhangi bir cfu enfeksiyon belirtisidir.

Üriner patojenler genellikle tek düze koloni morfolojisine sahip yüksek sayımlar verir ve tanımlama ve duyarlılık testi için doğrudan rutin besiyerine alt kültür uygulanmalıdır.^{6,7,9}

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

BD CLED Agar (Bevis), idrar örneklerinden *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* ve diğer fermente edici olmayan Gram negatif çubuk, enterokoklar, stafilkoklar, *Candida* türleri ve aerobik olarak gelişen diğer birçok mikroorganizmanın izolasyonu ve sayımı için uygundur.

Performans Sonuçları

Dahili bir değerlendirmede, **BD CLED Agar (Bevis)** *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus agalactiae* ve *Candida albicans* suşları ile test edilmiştir.⁸ Çoğu suş toplama suştu fakat birkaç klinik izolat da dahil edilmiştir. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** gelişim referans besiyeri olarak kullanılmıştır. 35 ± 2 °C'de 20 saatlik inkübasyondan sonra, tüm *Enterobacteriaceae* ve *C. albicans* besiyerinde çok iyi üremiş ve beklenen renk reaksiyonlarını oluşturmuştur. *S. agalactiae*'nin gelişimi kabul edilebilirdi, ve koloniler minik ila küçüktü. Ayrıntılı sonuçlar şöyledir:

Tür	BD CLED Agar (Bevis)'deki sonuçlar
<i>Candida albicans</i>	Mavi bir besiyerinde minik ila küçük beyazımsı koloniler
<i>Citrobacter freundii</i>	Kırmızı bir besiyerinde kırmızı koloniler
<i>Enterobacter cloacae</i>	Kırmızı bir besiyerinde kırmızı koloniler
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kırmızı bir besiyerinde kırmızı koloniler
<i>Proteus mirabilis</i>	Mavi bir besiyerinde grimsi koloniler, kümelenme kısmen inhibe edilmiş
<i>Proteus vulgaris</i>	Mavi bir besiyerinde grimsi koloniler, kümelenme kısmen inhibe edilmiş
<i>Providencia stuartii</i>	Mavi bir besiyerinde uçuk mavi koloniler
<i>Salmonella Typhimurium</i>	Mavi bir besiyerinde uçuk mavi şeffaf koloniler
<i>Serratia liquefaciens</i>	Mavi bir besiyerinde gri-beyaz koloniler
<i>Shigella sonnei</i>	Mavi bir besiyerinde uçuk mavi şeffaf koloniler
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Kırmızı bir besiyerinde gül rengi ila pembe haleleri olan minik ila küçük turuncu koloniler

Prosedürün Kısıtlı Olduğu Alanlar

Streptokoklar ve gelişim için kan veya serum gerektiren diğer organizmalar bu besiyerinde yetersiz ölçüde geri kazanılacaktır veya uzatılan inkübasyona ihtiyaç duyacaktır. Bu sebeple, böyle organizmalar bekleniyorsa örnek aynı zamanda kan agar plağında da kültive edilmelidir. *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* gibi genitoüriner patojenler veya diğer güç üreyen organizmalar bu besiyeri üzerinde gelişmez. Bu organizmaların uygun saptama teknikleri için referansa bakın.⁶

Laktoz fermentasyonuna göre bir ayrıştırma ve belirli tanı testleri doğrudan bu besiyerinde gerçekleştirilebilmesine rağmen, tam tanımlama için saf kültürlerin kullanıldığı biyokimyasal ve belirtilmişse immünolojik test gereklidir.⁹

Yanlış renk reaksiyonlarına sebep olabileceğinden, CLED Agar (Bevis) 24 saatten fazla inkübe edilmemelidir.

REFERANSLAR

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. Tenenbaum (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. Veriler dosyadadır. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Germany.
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.

AMBALAJ/TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

BD CLED Agar (Bevis)

Kat. No. 255529

Kullanıma Hazır Plak Besiyeri, cpu 20

EK BİLGİ

Daha fazla bilgi için lütfen yerel BD temsilcinizle temasa geçin.



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