

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

KULLANIM AMACI

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate), mikrobiyolojik idrar analizinde kullanılır. CLED Agar, idrarda bulunan bakterilerin izole edilmesi ve sayılmasında kullanılmaya yönelik diferansiyel bir kültür besiyeridir. MacConkey II Agar, klinik ve klinik olmayan örneklerden *Enterobacteriaceae* ve çeşitli gram negatif çubukların izolasyonu ve ayrıştırılması için seçici ve diferansiyel bir besiyeridir.

PROSEDÜR İLKELERİ VE AÇIKLAMASI

Mikrobiyolojik yöntem.

CLED Agar: 1960'da, Sandys, idrar kültüründe kullanmak için daha sonra birkaç kez modifiye edilmiş olan kültür ortamında elektrolitleri sınırlandırarak, katı besiyerinde *Proteus* kümelenmesini önleyen yeni bir yöntem geliştirdiğini bildirmiştir.¹⁻³ Sistin-Laktoz-Elektrolit-Bulunmayan (CLED) besiyeri olarak adlandırılmıştır ve idrar bakteriyolojisi için ideal olduğu bildirilmiştir.

CLED Agar'da peptonlar ve sığır eti ekstraktı besin sağlar. Laktoz, fermentatif bir mekanizma yoluyla bundan yararlanabilen organizmalar için bir enerji kaynağıdır. Bromtimol mavisi, laktoz fermenterlerini laktozu fermente etmeyenlerden ayırtmak için kullanılan bir pH indikatörüdür. Laktozu fermente eden organizmalar pH'ı düşürecek ve besiyerinin rengini yeşilden sarıya dönüştürecektir. Sistin "cüce koloni" koliformların gelişmesine olanak sağlar.³ *Proteus* türlerinin kümelenmesini en aza indirmek için elektrolit kaynakları azaltılmıştır.

MacConkey II Agar: *Enterobacteriaceae* ayrıştırması için en eski besiyeri formülasyonlarından biri MacConkey tarafından geliştirilmiş ve 1900 ve 1905'de yayınlanmıştır.^{4,5} Bu formülasyon safra tuzlarının asitlerle çöktildiği ve bazı mikroorganizmaların, diğerleri bu yeteneğe sahip değilken, laktoz fermente ettiği bilgilerine dayanarak tasarlanmıştır. Bu besiyeri, daha sonra, bir kaç defa değiştirilmiştir.^{6,7}

MacConkey Agar, gram pozitif mikroorganizmaları inhibe eden safra tuzları konsantrasyonu diğer enterik plak besiyerlerine göre düşük olduğundan yalnızca az seçicidir. Laktoz fermenterleri ve laktoz fermente etmeyenler içinde *Enterobacteriaceae* ve diğer gram negatif çubukların ilk gruplamasına olanak sağladığından, bu besiyerinin idrar ve diğer birçokları gibi karışık mikrop florası içermesi muhtemel klinik örnekler ile kullanılması önerilmektedir.⁷⁻¹⁰

MacConkey II Agar formülasyonu, kümelenen *Proteus* türlerinin inhibisyonunu artırmak, laktoz fermenterleri ile fermente etmeyenlerin ayrıştırılmasını daha iyi bir şekilde sağlamak ve üstün gelişimi için tasarlanmıştır.

MacConkey II Agar'da, peptonlar besin sağlar. Kristal viyole gram pozitif bakterileri, özellikle de enterokok ve stafilokokları inhibe eder. Enterik mikroorganizmaların ayrıştırılması laktoz ve nötral kırmızı pH indikatörünün kombinasyonu ile sağlanır. İzolatın karbohidratı fermente etme yeteneğine bağlı olarak renksiz veya pembe ile kırmızı renkte koloniler üretilir.

Bu çift plaktaki CLED ve MacConkey II Agar, toplam sayımın belirlenmesini ve idrar örneklerinden gram pozitif ve gram negatif bakterilerin izole edilmesini sağlar.

REAKTİFLER

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

1 Litre Saf Su için Formül*

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Jelatinin Pankreatik Dijesti	4,0 g	Jelatinin Pankreatik Dijesti	17,0 g
Kazeinin Pankreatik Dijesti	4,0	Kazeinin Pankreatik Dijesti	1,5
Sığır Eti Ekstraktı	3,0	Hayvan Dokularının Peptik Dijesti	1,5
Laktoz	10,0	Laktoz	10,0
L-Sistin	0,128	Safra Tuzları	1,5
Bromtimol Mavisi	0,02	Sodyum Klorür	5,0
Agar	15,0	Nötral Kırmızı	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Kristal Viyole	0,001
		Agar	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

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

ÖNLEMLER

In Vitro Diyagnostik Kullanım İçin **IVD**. Yalnızca profesyonel kullanım içindir. 
Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma, çatlama veya diğer bozulma belirtileri görülen plakları kullanmayın.

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	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Büyüme; koloniler sarı, besiyeri sarı	Büyüme; pembe koloniler
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Büyüme; koloniler renksiz ila mavi; kümelenme inhibe edilmiş; hafif yayılma kabul edilebilir	Büyüme; renksiz ila bej koloniler, kümeleşme inhibe edilmiş
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Büyüme; koloniler renksiz ila sarı; besiyeri sarı	Kısmi ila tam inhibisyon
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Büyüme; koloniler küçük, sarı; besiyeri sarı	Kısmi ila tam inhibisyon
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Büyüme; koloniler küçük, beyaz ila sarımsı; besiyeri sarı	Kısmi ila tam inhibisyon
İnoküle edilmemiş	Yeşil ila mavi yeşil	Açık pembe, hafif opalesan

PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (90 mm Çift Plaklar). 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).⁸⁻¹¹

Test Prosedürü

Bu çift plağın iki besiyerinin her biri için kalibre edilmiş öze kullanarak seyreltilmemiş, iyi karıştırılmış idrardan örnek alın (0,01 veya 0,001 mL). Özeye uygun miktarda örnek alınmasını sağlayın. İlk önce CLED Agar'da idrar numunesini ardından MacConkey II Agar'da ikinci numuneyi sürerek ekin. Plakları 24 ila 48 saat 35 ± 2 °C'de aerobik olarak inkübe edin. CO₂ açısından zenginleştirilmiş aerobik atmosferde inkübe etmeyin!

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.⁸

Orta kısım ve kateter idrarı: Mevcut rehberler $\geq 10^5$ CFU/mL yoğunlukta tek bir izolatin 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.⁸⁻¹¹

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

Kontaminant bakteriler genellikle koloni morfolojisinde çeşitlilik gösteren düşük sayılar halinde görülürken üriner patojenler genellikle tek düze koloni morfolojisine sahip yüksek sayımlar verir.

CLED Agar, gram pozitif ve gram negatif bakterilerin büyümesini sağlarken, gram pozitif bakteriler **MacConkey II Agar**'da kısmen ila tamamen inhibe olurlar.

MacConkey II Agar Besiyerindeki büyüme, gram negatif çubukların varlığını gösterir örn.

Enterobacteriaceae (*E. coli* ve diğer birçokları gibi).

CLED ve MacConkey II Agar yalnızca laktöz fermentasyona göre kolonilerin tahmini ayrışmasını sağlar. Antimikrobiyal duyarlılığın tam tanınması ve belirlenmesi için, ek testler gerçekleştirilmelidir.¹⁰⁻¹²

CLED Agar / MacConkey II Agar'da (Biplate) tipik koloni morfolojisi aşağıdaki gibidir:

Organizmalar	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Sarı koloniler, opak; sarı besiyeri	Büyüme; pembe koloniler
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Sarı ila beyazımsı mavi koloniler, sıklıkla mükoid; sarımsı besiyeri	Mükoid, pembe koloniler
<i>Proteus</i>	Saydam mavi koloniler; mavi-yeşil ila mavi besiyeri	Büyüme; renksiz ila bej koloniler, kümeleşme inhibe edilmiş
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Tipik mat yüzeyi olan yeşil koloniler ve tırtıklı perifer; mavi besiyeri	Düzensiz, renksiz ila pembe koloniler
Enterokoklar	Küçük sarı koloniler, sarı besiyeri	Kısmi ila tam inhibisyon
<i>Staphylococcus aureus</i>	Yoğun sarı koloniler, tekdüze renkli; sarı besiyeri	Kısmi ila tam inhibisyon
Koagülaz negatif stafilokoklar	Soluk sarı koloniler, enterokoktan daha opak	Kısmi ila tam inhibisyon

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

CLED Agar, idrar örneklerinden *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* ve diğer fermente edici olmayan gram negatif çubuk, enterokoklar, stafilokoklar, *Candida* türleri ve aerobik olarak gelişen diğer birçok mikroorganizmanın izolasyonu ve sayımı için uygundur.

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 referanslara bakın.^{9,10,12}

Laktoz fermentasyonuna göre bir ayırıştırma ve belirli tanı testleri doğrudan bu besiyerinde gerçekleştirilebilmesine rağmen, tam tanımlama için saf kültürlerin kullanıldığı biyokimyasal ve belirtilmişse immünolojik test gereklidir.¹⁰⁻¹²

MacConkey II Agar, klinik örneklerin birincil plağı ve klinik olmayan çeşitli malzemeler için kullanılan standart besiyerlerinden biridir. Bu besiyeri üzerinde, *Enterobacteriaceae* familyasına ait tüm organizmalar ve *Pseudomonas* ve ilgili cinsler gibi diğer çeşitli gram negatif çubuklar gelişecektir. Seçici içeriklere direnç gösteriyorlarsa nonfermenterler bu besiyerinde büyürler. Bu besiyerini spesifik organizmalar için kullanmadan önce referanslardaki ilgili bölümlere bakın.^{8,10} Bazı *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın CO₂ ile zenginleştirilmiş bir atmosferde inkübe edildiğinde MacConkey Agar'ında inhibe edildiği bildirilmiştir.¹³

Belirli tanı testleri doğrudan bu besiyerinde gerçekleştirilebilmesine rağmen, tam tanımlama için saf kültürlerin kullanıldığı biyokimyasal ve belirtilmişse immünolojik test gereklidir. Uygun referanslara bakın.^{8,10,12}

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. MacConkey, A.T. 1900. Note on a new medium for the growth and differentiation of the *Bacillus coli communis* and the *Bacillus typhi abdominalis*. The Lancet, Part II:20.
5. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg. 5:333-379.
6. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
7. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. 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.
9. Gattermann, S., et al. 1997. Harnwegsinfektionen. In: Mauch, H, et al. (ed.). MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologischen Diagnostik, vol. 2. Fischer Verlag, Stuttgart, Jena.
10. Gallien, R. 1988. Mikrobiologische Diagnostik in der ärztlichen Praxis – ein Leitfaden. Fischer Verlag, Stuttgart.
11. 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.
12. 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.
13. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO₂ vs. ambient incubation, abstr. C 179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.

AMBALAJ/TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Kat. No. 257562

Kullanıma hazır plak besiyeri, 20 plak

Kat. No. 257680

Kullanıma hazır plak besiyeri, 120 plak



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, American Type Culture Collection'ın ticari markasıdır.

BD, BD Logosu ve tüm diğer ticari markalar Becton, Dickinson and Company'nin mülkiyetindedir. © 2016 BD

İngilizce metindeki “References” (Referanslar) bölümüne bakın.

Yalnızca Rx

BD Diagnostics Teknik Servisi ve Desteği ile temas kurun. Yerel BD temsilcinizle bağlantı kurun.