

BD CLED Agar (Bevis)

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΟΝΤΑΙ

Το **BD CLED Agar (Bevis)** (Άγαρ CLED (Bevis)) είναι ένα τροποποιημένο άγαρ CLED (Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient (ανεπαρκές σε κυστίνη-λακτόζη-ηλεκτρολύτες)). Πρόκειται για ένα διαφορικό υλικό καλλιέργειας για χρήση στην απομόνωση και την απαρίθμηση βακτηρίων στα ούρα.

ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Μικροβιολογική μέθοδος.

Το 1960, ο Sandys έκανε αναφορά στην ανάπτυξη μιας νέας μεθόδου αποτροπής της σμηνουργίας του *Proteus* σε στερεά υλικά περιορίζοντας τους ηλεκτρολύτες στο υλικό καλλιέργειας, το οποίο τροποποιήθηκε αργότερα αρκετές φορές για χρήση σε καλλιέργειες ούρων.¹⁻³ Καθορίστηκε ως υλικό Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient (CLED) (ανεπαρκές σε κυστίνη-λακτόζη-ηλεκτρολύτες) και αναφέρθηκε ως ιδανικό για τεχνικές εμφάνισης ενοφθαλμίσματος και γενικά για τη βακτηριολογία των ούρων. Ο Bevis τροποποίησε το υλικό προσθέτοντας δείκτη Andrade (όξινη φουξίνη).⁴ Ο συνδυασμός των δύο δεικτών pH, του κυανού της βρωμοθυμόλης και της όξινης φουξίνης, επιτρέπει μια βελτιωμένη διαφοροποίηση των οργανισμών κατά αποικία και χρωματισμό του υλικού.^{4,5}

Στο **BD CLED Agar (Bevis)** οι πεπτόνες ζελατίνης και καζεΐνης είναι πηγές αζώτου και το εκχύλισμα βόειου κρέατος παρέχει πρόσθετα θρεπτικά συστατικά. Η λακτόζη συμπεριλαμβάνεται για την παροχή πηγής ενέργειας για μικροοργανισμούς με ικανότητα χρήσης της με ζυμωτικό μηχανισμό. Η κυστίνη επιτρέπει την ανάπτυξη "νάνων αποικιών" κολοβακτηριδίουμορφων. Το κυανό της βρωμοθυμόλης και η όξινη φουξίνη χρησιμοποιούνται ως σύστημα δείκτη του pH για τη διαφοροποίηση των ζυμωτικών της λακτόζης μικροοργανισμών από τους αζυμωτικούς της λακτόζης μικροοργανισμούς. Οι πηγές ηλεκτρολυτών είναι μειωμένες για ελαχιστοποίηση της σμηνουργίας των ειδών *Proteus*.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

BD CLED Agar (Bevis) (Άγαρ CLED (Bevis))

Σύνθεση* ανά λίτρο κεκαθαρμένου νερού

Πεπτόνη ζελατίνης	4,0 g
Πεπτόνη καζεΐνης	4,0
Εκχύλισμα βόειου κρέατος	3,0
Λακτόζη	10,0
L-κυστίνη	0,13
Κυανού της βρωμοθυμόλης	0,02
Δείκτης Andrade (όξινη φουξίνη)	0,1
Άγαρ	15,0

pH 7,5 +/- 0,2

*Προσαρμοσμένο ή/και συμπληρωμένο όπως απαιτείται έτσι, ώστε να πληρούνται τα κριτήρια σχετικά με την απόδοση.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

IVD . Προορίζεται αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση. ⓧ

Μη χρησιμοποιείτε τρυβλία που εμφανίζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης, αποχρωματισμό, ξηρότητα, ρωγμές ή άλλα σημάδια αλλοίωσης.

Συμβουλευτείτε το έγγραφο **ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ** σχετικά με τις ασηπτικές διαδικασίες χειρισμού, τους βιολογικούς κινδύνους και την απόρριψη του χρησιμοποιημένου προϊόντος.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ

Κατά την παραλαβή, φυλάσσετε τα τρυβλία στο σκοτάδι στους 2 έως 8°C, στην αρχική συσκευασία τους έως τη στιγμή της χρήσης τους. Αποφεύγετε την κατάψυξη και την υπερβολική θέρμανση. Τα τρυβλία είναι δυνατό να ενοφθαλμιστούν έως την ημερομηνία λήξης (δείτε την ετικέτα της συσκευασίας) και να επωαστούν στους συνιστώμενους χρόνους επώασης. Είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν τρυβλία από ανοιγμένες στοίβες 5 ή 10 τρυβλίων επί μία εβδομάδα, εφόσον φυλάσσονται σε καθαρό χώρο στους 2 έως 8°C.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΧΡΗΣΤΗ

Ενοφθαλμίστε αντιπροσωπευτικά δείγματα με τα ακόλουθα στελέχη (για λεπτομέρειες, δείτε το έγγραφο **ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**). Επώαστε τα τρυβλία στους $35 \pm 2^\circ\text{C}$ σε αερόβιο περιβάλλον.

Εξετάστε τα τρυβλία σε 18 έως 24 ώρες για ποσότητα ανάπτυξης, χρώση, μέγεθος αποικιών και αναστολή της σμηνουργίας/εξάπλωσης του *Proteus*.

Στελέχη	Αποτελέσματα ανάπτυξης
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Μεσαίου έως μεγάλου μεγέθους πορτοκαλί-ερυθρές αποικίες με ροζ έως ερυθρούς δακτυλίου
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Μεσαίου έως μεγάλου μεγέθους άχρωμες έως γκρίζες-κυανές αποικίες, μερική έως πλήρης αναστολή σμηνουργίας
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Μικρές έως μετρίου μεγέθους λευκές έως κίτρινες αποικίες, ροζ έως ερυθροί δακτύλιοι
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Μεσαίου μεγέθους χρυσοκίτρινες αποικίες με ρόδινους δακτυλίου
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Μικρές έως μετρίου μεγέθους λευκές έως ανοικτές ρόδινες αποικίες, ροζ δακτύλιοι
Μη ενοφθαλμισμένο	Κυανό

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρεχόμενα υλικά

BD CLED Agar (Bevis), παρεχόμενο σε τρυβλία **Stacker** των 90 mm. Μικροβιολογικά ελεγμένα.

Υλικά που δεν παρέχονται

Βοηθητικά υλικά καλλιέργειας, αντιδραστήρια και εργαστηριακός εξοπλισμός, όπως απαιτείται.

Τύποι δειγμάτων και συλλογή των δειγμάτων

Το υλικό χρησιμοποιείται αποκλειστικά για την απαρίθμηση και τη διαφοροποίηση των βακτηρίων στα ούρα. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ούρα μέσης ροής ή καθετήρα ή ούρα που έχουν συλλεχθεί με υπερηβική παρακέντηση της ουροδόχου κύστης (δείτε επίσης **ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ**). Για τη συλλογή δειγμάτων ούρων εφαρμόζετε άσηπτες τεχνικές. Τα ούρα πρέπει να επιστρώνονται απευθείας στο υλικό μέχρι 2 ώρες μετά τη συλλογή ή πρέπει να διατηρούνται στο ψυγείο (για διάστημα μέχρι 24 ώρες) ώστε να αποφεύγεται η υπερβολική ανάπτυξη των λοιμωδών ή των μολυσματικών παραγόντων πριν τον ενοφθαλμισμό σε αυτό το υλικό.^{6,7}

Διαδικασία της εξέτασης

Συλλέξτε ένα δείγμα μη αραιωμένων, καλά αναμειγμένων ούρων χρησιμοποιώντας βαθμονομημένο κρίκο (0,01 ή 0,001 ml). Βεβαιωθείτε για τη σωστή φόρτωση του κρίκου που περιέχει το δείγμα. Ενοφθαλμίστε το δείγμα στο κέντρο του τρυβλίου με μια επίστρωση από την οποία θα απλώσετε κατόπιν το ενοφθάλμισμα.^{6,7} Επώαστε τα τρυβλία σε αέρα περιβάλλοντος στους $35 \pm 2^\circ\text{C}$ για 18 έως 24 ώρες.

Αποτελέσματα

Η τυπική μορφολογία των αποικιών με **BD CLED Agar (Bevis)** είναι η ακόλουθη:

Οργανισμοί	Αποτελέσματα ανάπτυξης
<i>Escherichia coli</i>	Πορτοκαλί-ερυθρές έως ερυθρές αποικίες με ρόδιους έως ροζ δακτυλίου
<i>Proteus mirabilis</i>	Κυανές έως πράσινες, διαφανείς αποικίες
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Γκριζες-πράσινες ή πορτοκαλί έως κυανές, βλεννώδεις αποικίες
<i>Staphylococcus aureus</i>	Λείες, αδιαφανείς, χρυσοκίτρινες αποικίες με ρόδιους δακτυλίου
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Λείες λευκές έως ανοικτές ρόδινες αποικίες, ροζ δακτύλιοι
<i>Enterococcus faecalis</i>	Μικρές αδιαφανείς κίτρινες έως πορτοκαλί αποικίες, μικρού μεγέθους ρόδινοι έως ροζ δακτύλιοι

Υπολογισμός και ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Μετρήστε τον αριθμό των αποικιών (cfu) στο τρυβλίο. Αν χρησιμοποιήθηκε κρίκος 0,01 ml, κάθε αποικία που προκύπτει είναι αντιπροσωπευτική των 100 CFU/ml. Αν χρησιμοποιήθηκε κρίκος 0,001 ml, κάθε αποικία αντιστοιχεί σε 1000 CFU/ml ούρων.^{6,7}

Ούρα που λαμβάνονται από το μέσον της ροής ούρησης και μέσω καθετήρα: Οι τρέχουσες κατευθυντήριες γραμμές υποδεικνύουν ότι για έναν μόνο απομονωμένο οργανισμό η πυκνότητα $\geq 10^5$ cfu/ml υποδεικνύει λοίμωξη, η πυκνότητα $< 10^5$ cfu/ml υποδεικνύει ουρηθρική ή κοιλιακή μόλυνση, και μεταξύ 10^4 έως 10^5 CFU/ml απαιτείται εκ νέου αξιολόγηση με βάση τα κλινικά στοιχεία.^{6,7}

Τα μολυσματικά βακτηρίδια εμφανίζονται συνήθως σε μικρούς αριθμούς που ποικίλουν στη μορφολογία των αποικιών.

Ούρα που συλλέγονται με υπερηβική παρακέντηση της ουροδόχου κύστης: Επειδή η ουροδόχος κύστη είναι στείρα σε άτομα που δεν έχουν μολυνθεί, η ανίχνευση cfu υποδεικνύει λοίμωξη.

Τα παθογόνα των ούρων συνήθως αποδίδουν υψηλές μετρήσεις έχοντας ομοιόμορφη μορφολογία αποικιών και πρέπει να γίνεται ανακαλλιέργεια άμεσα σε συνήθη υλικά για ταυτοποίηση και εξέταση ευαισθησίας.^{6,7,9}

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το **BD CLED Agar (Bevis)** είναι κατάλληλο για την απομόνωση και την καταμέτρηση πολλών μικροοργανισμών αερόβιας ανάπτυξης, όπως *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* και άλλα αζυμωτικά Gram αρνητικά ραβδία, εντερόκοκκους, σταφυλόκοκκους, είδη *Candida* και πολλούς άλλους οργανισμούς, από δείγματα ούρων.

Αποτελέσματα σχετικά με τις επιδόσεις

Σε μια εσωτερική αξιολόγηση, το **BD CLED Agar (Bevis)** εξετάστηκε με στελέχη *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus agalactiae* και *Candida albicans*.⁸ Τα περισσότερα στελέχη ήταν στελέχη συλλογής, ωστόσο συμπεριλαμβάνονταν επίσης διάφορα κλινικά απομονωμένα στελέχη. Το **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (Άγαρ Columbia με 5% αίμα προβάτου BD) χρησιμοποιήθηκε ως υλικό αναφοράς ανάπτυξης. Μετά από 20 ώρες επώασης στους 35 ± 2 °C, όλα τα *Enterobacteriaceae* και *C. albicans* αναπτύχθηκαν πολύ καλά στο υλικό και παρήγαγαν τις αναμενόμενες χρωματικές αντιδράσεις. Η ανάπτυξη του *S. agalactiae* ήταν αποδεκτή και οι αποικίες μικροσκοπικές έως μικρές. Τα αναλυτικά αποτελέσματα που ελήφθησαν είχαν ως εξής:

Είδος	Αποτελέσματα στο BD CLED Agar (Bevis)
<i>Candida albicans</i>	Μικροσκοπικές έως μικρές υπόλευκες αποικίες σε κυανό υλικό
<i>Citrobacter freundii</i>	Ερυθρές αποικίες σε ερυθρό υλικό
<i>Enterobacter cloacae</i>	Ερυθρές αποικίες σε ερυθρό υλικό
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ερυθρές αποικίες σε ερυθρό υλικό
<i>Proteus mirabilis</i>	Γκριζωπές αποικίες σε κυανό υλικό, μερική αναστολή σμηνογυγίας

<i>Proteus vulgaris</i>	Γκριζωπές αποικίες σε κυανό υλικό, μερική αναστολή σμηνουργίας
<i>Providencia stuartii</i>	Ανοικτές κυανές αποικίες σε κυανό υλικό
<i>Salmonella Typhimurium</i>	Ανοικτές κυανές διαφανείς αποικίες σε κυανό υλικό
<i>Serratia liquefaciens</i>	Γκρίζες-λευκές αποικίες σε κυανό υλικό
<i>Shigella sonnei</i>	Ανοικτές κυανές διαφανείς αποικίες σε κυανό υλικό
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Μικροσκοπικές έως μικρές πορτοκαλί αποικίες με ρόδινους έως ροζ δακτυλίους σε ερυθρό υλικό

Περιορισμοί της διαδικασίας

Οι στρεπτόκοκκοι και άλλοι οργανισμοί που απαιτούν αίμα ή ορό για την ανάπτυξή τους ενδέχεται να ανακτηθούν ανεπαρκώς σε αυτό το υλικό ή ενδέχεται να απαιτούν παρατεταμένη επώαση. Επομένως, εάν αναμένονται τέτοιοι οργανισμοί, τα δείγματα θα πρέπει να καλλιεργηθούν επίσης σε ένα τρυβλίο άγαρ αίματος.

Σε αυτό το υλικό δεν αναπτύσσονται ουροποιογεννητικοί παθογόνοι οργανισμοί, όπως *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma*, ή άλλοι απαιτητικοί οργανισμοί.

Για τις κατάλληλες τεχνικές ανίχνευσης, συμβουλευτείτε τις βιβλιογραφικές αναφορές.⁶

Παρότι μπορεί να εκτελεστεί απευθείας σε αυτό το υλικό διαφοροποίηση σύμφωνα με τη ζύμωση λακτόζης και ορισμένες διαγνωστικές εξετάσεις, για πλήρη ταυτοποίηση απαιτούνται βιοχημικές και, εάν υποδεικνύεται, ανοσολογικές εξετάσεις, με χρήση καθαρών καλλιιεργειών.⁹ Το άγαρ CLED (Bevis) δεν πρέπει να επωάζεται για διάστημα μεγαλύτερο από 24 ώρες, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένες χρωματικές αντιδράσεις.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

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. Αρχαιοθετημένα στοιχεία. BD Diagnostic Systems Europe. Χαϊδελβέργη, Γερμανία.
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.

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ/ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

BD CLED Agar (Bevis) (Άγαρ CLED BD (Bevis))

Αρ. κατ. 255529

Έτοιμα προς χρήση υλικά καλλιέργειας σε τρυβλία, 20 τρυβλία

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για περισσότερες πληροφορίες, παρακαλούμε επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της 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 the property of Becton, Dickinson and Company. © 2012 BD