



## BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

### USO PREVISTO

**BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** se utiliza para el análisis microbiológico de orina. CLED Agar es un medio de cultivo diferencial para uso en el aislamiento y recuento de bacterias en muestras de orina. MacConkey II Agar es un medio de diferenciación selectivo para el aislamiento y la diferenciación de *Enterobacteriaceae* y diversos bacilos gram negativos en muestras clínicas y no clínicas.

### PRINCIPIOS Y EXPLICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

CLED Agar: En 1960, Sandys publicó el desarrollo de un nuevo método para prevenir la proliferación de *Proteus* en medios sólidos mediante la restricción de electrolitos en un medio de cultivo que posteriormente se modificó en varias ocasiones para utilizarlo en los cultivos de orina<sup>1-3</sup>. Se designó como medio Cistina-Lactosa deficiente en electrolitos (CLED) (del inglés, Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient) y se proclamó que resultaba ideal para la bacteriología urinaria.

En CLED Agar, las peptonas y el extracto de carne bovina proporcionan los nutrientes. La lactosa es una fuente de energía para los microorganismos capaces de utilizarla a través de un mecanismo de fermentación. El azul de bromotimol es un indicador de pH que permite diferenciar los microorganismos fermentadores de los no fermentadores de lactosa. Los primeros reducen el pH y modifican el color del medio, pasando éste de verde a amarillo. La cistina permite el crecimiento de "colonias enanas" de coliformes<sup>3</sup>. Se reducen las fuentes de electrolitos con el fin de minimizar la proliferación de las especies de *Proteus*.

MacConkey II Agar: Una de las primeras fórmulas de medios para la diferenciación de *Enterobacteriaceae* fue desarrollada por MacConkey y publicada en 1900 y 1905<sup>4,5</sup>. Esta fórmula fue diseñada sabiendo que las sales biliares precipitan por acción de ácidos y que determinados microorganismos entéricos fermentan la lactosa, mientras que otros no presentan dicha capacidad. Posteriormente, este medio fue modificado varias veces<sup>6,7</sup>.

MacConkey Agar es sólo ligeramente selectivo, dado que la concentración de sales biliares, que inhiben los microorganismos gram positivos, es baja en comparación con otros medios de siembra en placa entéricos. Se recomienda el uso de este medio con muestras clínicas que posiblemente contengan flora microbiana mixta, tales como la orina y muchas otras más, dado que permite una agrupación preliminar de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos gram negativos en fermentadores y no fermentadores de lactosa<sup>7-10</sup>.

La fórmula de MacConkey II Agar se diseñó para mejorar la inhibición de la proliferación de la especie *Proteus*, lograr una mejor diferenciación de los organismos fermentadores y no fermentadores de lactosa y alcanzar un crecimiento superior.

En MacConkey II Agar, las peptonas proporcionan los nutrientes. El cristal violeta inhibe las bacterias gram positivas, en especial los enterococos y estafilococos. La diferenciación de los microorganismos entéricos se logra mediante la combinación de lactosa y el indicador de pH rojo neutro. Se producen colonias incoloras o de color de rosa a rojo según la capacidad del aislado para fermentar los carbohidratos.

La presencia de agar CLED y agar MacConkey II en esta biplaca permite la determinación del recuento total y el aislamiento de bacterias gram positivas y gram negativas a partir de muestras de orina.

## REACTIVOS

### CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)

Fórmula\* por litro de agua purificada

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Digerido pancreático de gelatina	4,0 g	Digerido pancreático de gelatina	17,0 g
Digerido pancreático de caseína	4,0	Digerido pancreático de caseína	1,5
Extracto de carne bovina	3,0	Digerido péptico de tejido animal	1,5
Lactosa	10,0	Lactosa	10,0
L-cistina	0,128	Sales biliares	1,5
Azul de bromotimol	0,02	Cloruro sódico	5,0
Agar	15,0	Rojo neutro	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Cristal violeta	0,001
		Agar	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

\*Ajustada y/o complementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

## PRECAUCIONES

Para uso diagnóstico *in vitro* **IVD** Solamente para uso profesional. 

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

## ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C, en su envase original hasta justo antes de su uso. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades almacenadas en un área limpia a una temperatura de 2 a 8 °C pueden utilizarse durante una semana.

## CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener más datos, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar las placas a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia.

Examinar las placas al cabo de 18 - 24 h para observar la extensión del crecimiento, la pigmentación, el tamaño de las colonias y la inhibición de la proliferación o propagación del *Proteus*.

Cepas	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crecimiento; colonias y medio de color amarillo	Crecimiento; colonias de color rosa
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Crecimiento; colonias desde incoloras hasta de color azul; inhibición de la proliferación; ligera propagación aceptable	Crecimiento; colonias de incoloras a color beige, proliferación inhibida
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Crecimiento; colonias desde incoloras hasta de color amarillo; medio de color amarillo	Inhibición de parcial a completa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crecimiento; colonias pequeñas, de color amarillo; medio de color amarillo	Inhibición de parcial a completa
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Crecimiento; colonias pequeñas, color blanco a amarillento; medio de color amarillo	Inhibición de parcial a completa
Sin inocular	Color de verde a azul verdoso	Rosa claro, ligeramente opalescente

## PROCEDIMIENTO

### Materiales suministrados

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplacas de 90 mm). Con control microbiológico.

### Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

### Tipos y recogida de las muestras

Este medio se utiliza exclusivamente para contar y diferenciar las bacterias presentes en la orina. Se puede utilizar la orina de la parte media de la micción, de la sonda o recogida mediante punción vesical suprapúbica (ver también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**). Emplear técnicas asépticas al recoger las muestras urinarias. Es preciso extender la orina directamente sobre el medio no más tarde de las 2 horas siguientes a la recogida de la muestra, o bien refrigerarla (menos de 24 horas) para evitar el crecimiento excesivo de los agentes infecciosos o contaminantes, antes de la inoculación de este medio.<sup>8-11</sup>

### Procedimiento de análisis

Recoger con un asa calibrada (0,01 ó 0,001 mL) una muestra de orina no diluida, adecuadamente mezclada, para cada uno de los dos medios de esta biplaca. Confirmar la obtención de una cantidad de muestra adecuada en el asa. Primero, extender una muestra de la orina sobre CLED Agar, después extender la segunda muestra sobre MacConkey II Agar. Incubar en atmósfera aerobia a  $35 \pm 2$  °C durante 24 – 48 h. No incubar en una atmósfera aerobia enriquecida con CO<sub>2</sub>.

### Recuento e interpretación de los resultados.

Contar el número de colonias (UFC) en la placa. Si se utiliza un asa de 0,01 mL, cada colonia resultante representa 100 UFC/mL; si se utiliza un asa de 0,001 mL, cada colonia corresponde a 1000 UFC/mL de orina<sup>8</sup>.

Orina de la parte media de la micción y de sonda: Las directrices actuales indican que, para un único aislado, una densidad de  $\geq 10^5$  UFC/mL indica infección,  $< 10^5$  UFC/mL indica contaminación uretral o vaginal, en tanto que se deben evaluar nuevamente las densidades de  $10^4 - 10^5$  UFC/mL basándose en la información clínica.<sup>8-11</sup>

Orina recogida mediante punción vesical suprapúbica: Dado que la vejiga es estéril en los individuos no infectados, la detección de toda UFC indica una infección.

Los patógenos de la orina normalmente producen recuentos elevados y presentan una morfología uniforme de las colonias mientras que las bacterias contaminantes generalmente aparecen en escasas cantidades y con una morfología variada de las colonias.

Mientras que CLED Agar permite el crecimiento de bacterias gram positivas y gram negativas, el crecimiento de las bacterias gram positivas queda parcial o totalmente inhibido en

MacConkey II Agar.

El crecimiento en el medio MacConkey II Agar indica la presencia de bacilos gram negativos, por ejemplo, *Enterobacteriaceae* (como *E. coli* y muchos otros de estos bacilos).

CLED Agar y MacConkey II Agar sólo permiten una presunta diferenciación de las colonias conforme a la prueba de fermentación de la lactosa. Para lograr una identificación completa y para la determinación de la sensibilidad a antibióticos, deben realizarse pruebas adicionales<sup>10-12</sup>.

La morfología característica de las colonias en **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** es la siguiente:

Organismos	CLED Agar	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Colonias amarillas, opacas, medio de color amarillo	Crecimiento; colonias de color rosa
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Colonias de color amarillo o blanco azulado, a menudo mucoides; medio de color amarillento	Colonias mucoides de color rosa
<i>Proteus</i>	Colonias de color azul traslúcido; medio de color azul o verdoso	Crecimiento; colonias de incoloras a color beige, proliferación inhibida
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonias de color verde con superficie característicamente mate y bordes irregulares; medio de color azul	Colonias irregulares, de incoloras a color rosa
Enterococos	Colonias pequeñas amarillas, medio de color amarillo	Inhibición de parcial a completa
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colonias de color amarillo intenso y	Inhibición de parcial a completa

	uniforme; medio de color amarillo	
Estafilococos coagulasa negativos	Colonias de color amarillo pálido, más opacas que las de enterococos	Inhibición de parcial a completa

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

CLED Agar es adecuado para aislar y efectuar el recuento de numerosos microorganismos de crecimiento aerobio como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* y otros bacilos gram negativos no fermentadores, enterococos, estafilococos, especies de *Candida* y muchos otros de estos microorganismos, en muestras de orina.

Los estreptococos y otros microorganismos que precisan sangre o suero para su crecimiento pueden no ser recuperados suficientemente en este medio o requerir una prolongada incubación. Por tanto, si se espera hallar tales microorganismos, se debe cultivar la muestra asimismo en una placa de agar sangre.

Los patógenos genitourinarios como *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* y otros microorganismos exigentes, no crecen en este medio. Consultar las referencias para conocer las técnicas de detección adecuadas para estos microorganismos.<sup>9,10,12</sup>

Aunque en este medio puede efectuarse la diferenciación conforme a la fermentación de lactosa y determinadas pruebas de diagnóstico, se precisa el análisis bioquímico y, en caso indicado, inmunológico, empleando cultivos puros para lograr la identificación completa<sup>10-12</sup>.

MacConkey II Agar es uno de los medios estándar utilizados para la siembra primaria en placas de muestras clínicas y para diversos materiales no clínicos. En este medio crecerán microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae* y una diversidad de otros bacilos gram negativos, p. ej. *Pseudomonas* y géneros relacionados. En este medio crecen microorganismos no fermentadores si son resistentes a sus componentes selectivos. Consultar los capítulos correspondientes en las referencias antes de utilizar el medio para organismos específicos.<sup>8,10</sup>

Se ha descrito la inhibición de algunas *Enterobacteriaceae* y de *Pseudomonas aeruginosa* en MacConkey Agar cuando se incuban en una atmósfera enriquecida con CO<sub>2</sub>.<sup>13</sup>

Ciertas pruebas diagnósticas pueden efectuarse directamente en este medio; no obstante, para lograr la identificación completa se necesitan pruebas bioquímicas y, si así se indica, pruebas inmunológicas usando cultivos puros. Consultar las referencias correspondientes.<sup>8,10,12</sup>

### REFERENCIAS

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. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Gatermann, 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 Leitfadens. 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. Tenover (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: CO<sub>2</sub> vs. ambient incubation, abstr. C 179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.

## **ENVASE/DISPONIBILIDAD**

### **CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)**

Nº de cat. 257562

Medios en placa listos para usar, 20 placas

Nº de cat. 257680

Medios en placa listos para usar, 120 placas



### **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 es marca comercial de la American Type Culture Collection.

BD, el logotipo de BD y todas las demás marcas comerciales son propiedad de Becton, Dickinson and Company.

© 2016 BD