

BD CLED Agar (Bevis)

VERWENDUNGSZWECK

BD CLED Agar (Bevis) (BD CLED-Agar (Bevis) ist ein modifizierter CLED-(Elektrolytarmer Cystin-Lactose)-Agar. Es ist ein Differenzierungs-Kulturmedium zur Isolierung und quantitativen Bestimmung von Bakterien im Urin.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Im Jahr 1960 berichtete Sandys über die Entwicklung einer neuen Methode zur Verhinderung des Schwärmens von *Proteus* auf festen Medien durch die Begrenzung von Elektrolyten im Kulturmedium. Das Medium wurde später noch mehrmals zur Verwendung zur Urinkultivierung modifiziert.¹⁻³ Es wurde als Elektrolytarmes Cystin-Lactose-Medium (CLED) bezeichnet und als ideal für Dip-Slide-Techniken und die Bakteriologie des Urins im Allgemeinen beschrieben. Bevis hat das Medium durch Zugabe des Andrade-Indikators (saurem Fuchsin) modifiziert.⁴ Die Kombination der zwei pH-Indikatoren Bromthymolblau und Fuchsin, sauer, erlaubt eine verbesserte Differenzierung der Organismen durch Kolonie- und Mediumfärbung.^{4,5}

In **BD CLED Agar (Bevis)** agieren Gelatine- und Casein-Peptide als Stickstoffquellen, während Rindfleischextrakt zusätzliche Nährstoffe liefert. Lactose wird als Energiequelle für Organismen hinzugefügt, die die Fähigkeit besitzen, diese durch Fermentation zu nutzen. Das Cystin ermöglicht das Wachstum von „Zwergkolonien“ coliformer Bakterien. Bromthymolblau und saures Fuchsin werden als pH-Indikator-System zur Differenzierung von Lactosefermentern und Nicht-Lactosefermentern verwendet. Die Elektrolytquellen wurden verringert, um das Schwärmen von *Proteus*-Spezies zu minimieren.

REAGENZIEN

BD CLED Agar (Bevis)

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Gelatine-Pepton	4,0 g
Casein-Pepton	4,0
Rindfleischextrakt	3,0
Lactose	10,0
L-Cystin	0,13
Bromthymolblau	0,02
Andrade-Indikator (Fuchsin, sauer)	0,1
Agar	15,0

pH 7,5 ± 0,2

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch. 

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum

Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.
 Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Platten bei 35 ± 2 °C aerob inkubieren.

Platten nach 18 bis 24 h auf Wachstum, Pigmentierung, Koloniegröße und Hemmung des Schwärmens/Ausbreitens von *Proteus* überprüfen.

Stämme	Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Mittelgroße bis große orange-rote Kolonien mit pinkfarbenen bis roten Höfen
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Mittelgroße bis große farblose bis grau-blaue Kolonien, teilweise bis vollständig gehemmtes Schwärmen
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Kleine bis mittelgroße weiße bis gelbe Kolonien, pinkfarbene bis rote Höfe
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Mittelgroße goldgelbe Kolonien mit rosafarbenen Höfen
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Kleine bis mittelgroße weiße bis blassrosa Kolonien, pinkfarbene Höfe
Nicht inokuliert	Blau

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD CLED Agar (Bevis), erhältlich als 90 mm **Stacker**-Platten. Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten und Probenentnahme

Dieses Medium ist ausschließlich zur quantitativen Bestimmung und Differenzierung von Bakterien im Urin vorgesehen. Als Probe eignet sich Mittelstrahl- oder Katheterurin, oder Urin der mittels einer suprapubischen Blasenpunktion gewonnen wurde (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Bei der Gewinnung von Urinproben aseptische Kautelen beachten. Der Urin muss spätestens 2 Stunden nach der Probenentnahme direkt auf dem Medium ausgestrichen oder gekühlt aufbewahrt (nicht länger als 24 Stunden) werden, um ein Überwachen der infektiösen Erreger oder Kontaminanten vor der Inokulation des Mediums zu verhindern.^{6,7}

Testverfahren

Eine Probe des unverdünnten, gut durchmischten Urins unter Verwendung einer kalibrierten Impföse (0,01 oder 0,001 mL) entnehmen. Auf die korrekte Füllung der Impföse mit der Probe achten. Die Probe in der Mitte der Platte in einem einzigen Ausstrich inokulieren, von dem aus das Inokulum weiter verteilt wird.^{6,7} Platten an der Umgebungsluft 18 – 24 h bei 35 ± 2 °C inkubieren.

Ergebnisse

Kolonien auf **BD CLED Agar (Bevis)** weisen typischerweise das folgende Erscheinungsbild auf:

Organismen	Wachstum
<i>Escherichia coli</i>	Orange-rote bis rote Kolonien mit rosa- bis pinkfarbenen Höfen
<i>Proteus mirabilis</i>	Blau-grüne, transparente Kolonien
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Grau-grüne oder orangefarbene bis blaue, mukoide Kolonien
<i>Staphylococcus aureus</i>	Glatte, opake, goldgelbe Kolonien mit rosafarbenen Höfen
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Glatte, weiße bis blassrosa Kolonien; pinkfarbene Höfe
<i>Enterococcus faecalis</i>	Kleine, opake gelbe bis orangefarbene Kolonien, kleine rosa- bis pinkfarbene Höfe

Berechnung und Interpretation der Ergebnisse

Die Anzahl der Kolonien (KBE) auf der Platte bestimmen. Bei Verwendung einer 0,01-mL-Impföse entspricht jede daraus resultierende Kolonie 100 KBE/mL Urin; Bei Verwendung einer 0,001-mL-Impföse entspricht jede Kolonie 1000 KBE/mL Urin.^{6,7}

Mittelstrahl- und Katheterurin: Nach aktuellen Richtlinien deutet eine Dichte von $\geq 10^5$ KBE/mL eines Isolats auf eine Infektion hin, eine Dichte von $< 10^5$ KBE/mL deutet auf eine Kontamination der Harnröhre oder der Vagina hin und ein Wert zwischen $10^4 - 10^5$ KBE/mL erfordert eine erneute Bewertung anhand der klinischen Informationen.^{6,7}

Kontaminante Bakterien treten meist in geringer Zahl und mit unterschiedlicher Koloniemorphologie auf.

Urin, der durch suprapubische Blasenpunktur gewonnen wurde: Da die Harnblase bei infektionsfreien Patienten steril ist, deutet jede nachgewiesene KBE auf eine Infektion hin.

Krankheitserreger im Urin erbringen im Allgemeinen hohe Koloniezahlen mit einheitlicher Koloniemorphologie und müssen zur Identifizierung und Empfindlichkeitsprüfung direkt auf einem Routinemedium subkultiviert werden.^{6,7,9}

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD CLED Agar (Bevis) eignet sich zur Isolierung und quantitativen Bestimmung einer Vielzahl von aerob wachsenden Mikroorganismen, z.B. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* und weitere nicht-fermentierende gramnegative Stäbchen, Enterokokken, Staphylokokken, *Candida*-Spezies, und viele andere Spezies aus Urinproben.

Leistungsergebnisse

In einer internen Untersuchung wurde **BD CLED Agar (Bevis)** mit Stämmen von *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus agalactiae* und *Candida albicans* getestet.⁸ Die meisten Stämme waren Sammelstämme, aber es wurden auch verschiedene klinische Isolate einbezogen. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** wurde als Wachstumsreferenz-Medium verwendet. Nach 20 h Inkubation bei 35 ± 2 °C zeigten all *Enterobacteriaceae* und *C. albicans* ein sehr gutes Wachstum auf dem Medium und produzierten die erwarteten Farbreaktionen. Das Wachstum von *S. agalactiae* war akzeptabel und die Kolonien waren winzig bis klein. Die detaillierten Ergebnisse waren wie folgt:

Spezies	Ergebnisse auf BD CLED Agar (Bevis)
<i>Candida albicans</i>	Winzige bis kleine weißliche Kolonien auf einem blauen Medium
<i>Citrobacter freundii</i>	Rote Kolonien auf einem roten Medium
<i>Enterobacter cloacae</i>	Rote Kolonien auf einem roten Medium
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Rote Kolonien auf einem roten Medium
<i>Proteus mirabilis</i>	Gräuliche Kolonien auf einem blauen Medium; teilweise gehemmt Schwärmen
<i>Proteus vulgaris</i>	Gräuliche Kolonien auf einem blauen Medium; teilweise gehemmt Schwärmen
<i>Providencia stuartii</i>	Blassblaue Kolonien auf einem blauen Medium
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Blassblaue, transparente Kolonien auf einem blauen Medium
<i>Serratia liquefaciens</i>	Grau-weiße Kolonien auf einem blauen Medium
<i>Shigella sonnei</i>	Blassblaue, transparente Kolonien auf einem blauen Medium
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Winzige bis kleine orangefarbene Kolonien mit rosa- bis pinkfarbenen Höfen auf einem roten Medium

Verfahrensbeschränkungen

Streptokokken und andere Organismen, die Blut oder Serum zum Wachstum benötigen, können möglicherweise nur unzureichend auf diesem Medium isoliert werden oder erfordern unter Umständen eine verlängerte Inkubationszeit. Daher sollte die Probe bei Verdacht auf solche Organismen gleichzeitig auf einer Blutagarplatte kultiviert werden.

Erreger urogenitaler Infektionen wie *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* oder andere anspruchsvolle Organismen weisen auf diesem Medium kein Wachstum auf. Informationen über geeignete Nachweismethoden dieser Organismen sind der Literatur zu entnehmen.⁶

Obwohl eine Differenzierung anhand der Lactose-Fermentierung und bestimmte andere diagnostische Tests direkt auf diesem Medium durchgeführt werden können, sind für eine vollständige Identifizierung biochemische und, falls indiziert, immunologische Tests unter Verwendung von Reinkulturen erforderlich.⁹

CLED-Agar (Bevis) darf nicht länger als 24 h inkubiert werden, da dies zu falschen Farbreaktionen führen könnte.

LITERATUR

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. Data on file. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Germany.
9. 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.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD CLED Agar (Bevis)

Best.-Nr. 255529

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



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