



## BD CLED Agar (Bevis)

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD CLED Agar (Bevis)** é um ágar de CLED (cistina lactose deficiente em electrólitos) modificado. É um meio de cultura para diferenciação a utilizar no isolamento e enumeração de bactérias na urina.

### PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

Em 1960, Sandys referiu o desenvolvimento de um novo método para evitar a proliferação de *Proteus* em meios sólidos, limitando os electrólitos no meio de cultura que foi posteriormente modificado para ser utilizado em culturas de urina.<sup>1-3</sup> Este meio foi designado como meio de cistina lactose deficiente em electrólitos (CLED) e demonstrou ser ideal para técnicas de imersão do inóculo e para a bacteriologia urinária em geral. Bevis modificou o meio adicionando o indicador Andrade (fucsina ácida) ao meio.<sup>4</sup> A combinação dos dois indicadores de pH, azul de bromotimol e fucsina ácida, permite uma melhoria na diferenciação dos organismos por meio de coloração da colónia e do meio.<sup>4,5</sup>

No **BD CLED Agar (Bevis)**, a gelatina e as peptonas de caseína são fontes de nitrogénio e o extracto de carne de vaca fornece os nutrientes adicionais. A lactose foi incluída para fornecer uma fonte de energia para os organismos com capacidade para utilizá-la através de um mecanismo fermentativo. A cistina permite o crescimento de coliformes de "colónias anãs". O azul de bromotimol e a fucsina ácida são utilizados como sistemas indicadores de pH para diferenciar os fermentadores da lactose dos não fermentadores da lactose. As fontes de electrólitos são reduzidas para minimizar a proliferação de espécies de *Proteus*.

### REAGENTES

#### BD CLED Agar (Bevis)

Fórmula\* por Litro de Água Purificada

Peptona de gelatina	4,0 g
Peptona de caseína	4,0
Extracto de bovino	3,0
Lactose	10,0
L-cistina	0,13
Azul de bromotimol	0,02
Indicador Andrade (fucsina ácida)	0,1
Ágar	15,0

pH 7.5 ± 0,2

\*Ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios do desempenho.

### PRECAUÇÕES

**IVD** . Apenas para uso profissional. ☒

Não utilizar as placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

Consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para informação sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

### ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após recepção das placas, conservar no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C, dentro do invólucro original até ao momento da utilização. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As

placas podem ser inoculadas até ao prazo de validade (ver a etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado.

As placas são fornecidas em pilhas de 10 placas e, quando uma destas pilhas é aberta, as respectivas placas terão de ser utilizadas no prazo máximo de uma semana, se forem conservadas em local limpo a uma temperatura entre 2 e 8°C.

### CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR

Inocular amostras representativas com as seguintes estirpes (para mais detalhes, consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**). Incubar as placas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  numa atmosfera aeróbia.

Examinar as placas após 18 a 24 h para registar o grau de crescimento, a pigmentação, o tamanho da colónia e a inibição da proliferação/propagação de *Proteus*.

Estirpes	Resultados de crescimento
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Colónias laranja-vermelhas de média a grande dimensão com halos rosa a vermelhos
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Colónias incolores a cinzento-azul de média a grande dimensão, proliferação parcial a totalmente inibida
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Colónias brancas a amarelas de pequena a média dimensão, halos rosa a vermelhos
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Colónias douradas-amarelas de média dimensão com halos rosa
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Colónias brancas a rosa pálido de pequena a média dimensão, halos rosa
Não inoculadas	Azul

### PROCEDIMENTO

#### Materiais fornecidos

**BD CLED Agar (Bevis)**, fornecido em placas **Stacker** de 90 mm. Microbiologicamente controlado.

#### Materiais não fornecidos

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento laboratorial, conforme necessário.

#### Tipos de amostra e colheita de amostras

Este meio destina-se exclusivamente à enumeração e diferenciação de bactérias na urina. É possível utilizar urina de jacto médio ou urina de cateterização ou urina colhida através de uma punção supra-púbica na bexiga (consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**). Cumprir as técnicas assépticas para a colheita de amostras de urina. A urina deve ser directamente espalhada no meio num período de tempo não superior a 2 h após a colheita ou deve ser mantida no frigorífico (por um período inferior a 24 h) para evitar o crescimento excessivo de agentes infecciosos ou contaminantes antes da inoculação deste meio.<sup>6,7</sup>

#### Procedimento do teste

Colher uma amostra de urina não diluída e bem misturada utilizando uma ansa calibrada (0,01 ou 0,001 mL). Certificar-se de que é feita a aplicação adequada da amostra na ansa. Proceder à inoculação da amostra no meio da placa numa única faixa a partir da qual ocorre a propagação adicional do inóculo.<sup>6,7</sup> Incubar as placas em ar ambiente, a uma temperatura de  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , durante 18 a 24 h.

#### Resultados

A aparência típica das colónias no **BD CLED Agar (Bevis)** é a seguinte:

Organismos	Resultados de crescimento
<i>Escherichia coli</i>	Colónias laranja-vermelhas a vermelhas com halos rosa a vermelhos
<i>Proteus mirabilis</i>	Colónias azul-verdes, transparentes
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Colónias cinzento-verdes ou laranja a azul, mucóides
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colónias homogéneas, opacas, douradas-amarelas com halos rosa

<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Colónias homogéneas brancas a rosa pálido, halos rosa
<i>Enterococcus faecalis</i>	Colónias amarelo opaco a laranja de pequena dimensão, halos pequenos rosa a cor-de-rosa

### Cálculo e interpretação dos resultados

Contar o número de colónias (cfu) na placa. Caso tenha sido utilizada uma ansa de 0,01 mL, cada colónia resultante representa 100 CFU/mL; caso tenha sido utilizada uma ansa de 0,001 mL, cada colónia corresponde a 1000 CFU/mL de urina.<sup>6,7</sup>

Urina de jacto médio e cateterização: As linhas de orientação actuais indicam que para um único isolado uma densidade de  $\geq 10^5$  cfu/mL indica infecção,  $< 10^5$  cfu/mL indica contaminação uretral ou vaginal e entre  $10^4$  a  $10^5$  CFU/mL necessita de ser novamente avaliada com base na informação clínica.<sup>6,7</sup>

As bactérias contaminantes aparecem normalmente em número reduzido consoante a morfologia das colónias.

Urina colhida através punção supra-púbica na bexiga: Uma vez que a bexiga é estéril em indivíduos não infectados, quaisquer cfu detectadas indicam uma infecção.

Os agentes patogénicos urinários irão normalmente dar origem a contagens elevadas apresentando uma morfologia de colónias uniforme e deverá ser efectuada uma repicagem directamente no meio de rotina para a identificação e realização de testes de sensibilidade.<sup>6,7,9</sup>

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O ágar **BD CLED Agar (Bevis)** é apropriado para o isolamento e contagem de muitos microorganismos de crescimento aeróbio, como as *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* e outros bastonetes gram-negativos não fermentadores, os enterococos, estafilococos, tipos de *Candida* e muitos outros relativamente a amostras de urina.

#### Resultados de desempenho

Numa avaliação a nível interno, o **BD CLED Agar (Bevis)** foi testado com estirpes de *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus agalactiae* e *Candida albicans*.<sup>8</sup> A maioria das estirpes eram estirpes de colheitas, mas também foram incluídos diversos isolados clínicos. O **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** foi utilizado como meio de referência de crescimento. Após 20 h de incubação a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , todas as *Enterobacteriaceae* e *C. albicans* cresceram bastante bem no meio e produziram as reacções de cor esperadas. O crescimento da *S. agalactiae* foi aceitável e as colónias tinham uma dimensão diminuta a pequena. Os resultados detalhados foram os seguintes:

Espécies	Resultados no BD CLED Agar (Bevis)
<i>Candida albicans</i>	Colónias esbranquiçadas de dimensão diminuta a pequena num meio azul
<i>Citrobacter freundii</i>	Colónias vermelhas num meio vermelho
<i>Enterobacter cloacae</i>	Colónias vermelhas num meio vermelho
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colónias vermelhas num meio vermelho
<i>Proteus mirabilis</i>	Colónias acinzentadas num meio azul; proliferação parcialmente inibida
<i>Proteus vulgaris</i>	Colónias acinzentadas num meio azul; proliferação parcialmente inibida
<i>Providencia stuartii</i>	Colónias azuis claras num meio azul
<i>Salmonella Typhimurium</i>	Colónias transparentes azuis claras num meio azul
<i>Serratia liquefaciens</i>	Colónias cinzentas-brancas num meio azul
<i>Shigella sonnei</i>	Colónias transparentes azuis claras num meio azul
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Colónias cor-de-laranja de dimensão diminuta ou pequena com halos rosa a cor-de-rosa num meio vermelho

#### Limitações do procedimento

Os estreptococos e outros organismos que necessitam de sangue ou soro para crescer poderão ser apenas recuperados de forma insuficiente ou poderão necessitar de uma incubação mais prolongada. Por essa razão, a amostra deverá também ser submetida a cultivo numa placa de ágar de sangue se se prever o aparecimento destes organismos.

Neste meio, não se verifica o crescimento de agentes patogénicos do aparelho geniturinário como, por exemplo, o *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma*, ou outros organismos exigentes. Consultar a bibliografia para mais informações sobre as técnicas de detecção apropriadas relativamente a estes organismos.<sup>6</sup>

Embora possa ser efectuada uma diferenciação de acordo com a fermentação da lactose e alguns testes de diagnóstico directamente neste meio, é necessária a realização de testes bioquímicos para uma completa identificação e, se indicado, a realização de testes imunológicos usando culturas puras.<sup>9</sup>

O ágar CLED (Bevis) não pode ser incubado mais de 24 h uma vez que isto pode reacções de cor erradas.

## BIBLIOGRAFIA

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, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

## EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

### BD CLED Agar (Bevis)

No. de cat. 255529 Meios em placas prontos a usar, 20 placas

## INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para obter informações adicionais, contacte o representante local da 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