

BD CLED Agar

AVSEDD ANVÄNDNING

BD CLED Agar (BD CLED-agar) (cystin-laktos-elektrolyt-“deficient”(brist) -agar) är ett differentierande odlingsmedium för användning vid isolering och räkning av bakterier i urin. Det stöttar växten av urinpatogener och kontaminanter med förhindra onödig svärmning av *Proteus* species på grund av dess brist på elektrolyter.

PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV METODEN

Mikrobiologisk metod.

Sandys rapporterade 1960 om utvecklingen av en metod som förhindrar svärmning av *Proteus* på fast media genom att begränsa elektrolyterna i odlingsmediet, vilket senare modifierades flera gånger för användning i urinodling.¹⁻³ Det betecknades som ett cystin-laktos-elektrolyt-“deficient (brist)” (CLED)-medium och rapporterades vara idealt för dopp-inokulationstekniker och för urinbakteriologi i allmänhet.

Näringsämnen i **BD CLED-agar** tillhandahålls av gelatinet och kaseinpeptoner samt extrakt av nötkött. Laktos inkluderas för att ge en energikälla för organismer kapabla till att utnyttja denna genom en fermentering. Bromtymolblått används som en pH-indikator för att differentiera laktosfermenterande från icke-laktosfermenterande organismer. Organismer som fermenterar laktos kommer att sänka pH och ändra färgen på mediet från grönt till gult. Cystin tillåter växt av “dvärgkolonier” av koliforma.³ Elektrolytkällor har reducerats för att minimera svärmning av *Proteus* species. Följaktligen, tillåter mediet kvantitativ bestämning av urinpatogener inkluderande *Proteus* när avpassade slyngor används för inokulation.

REAGENSER

BD CLED-agar

Sammansättning* per liter aqua purif

Pankreatisk spjälkning av gelatin	4,0 g
Pankreatisk spjälkning av kasein	4,0
Nötextrakt	3,0
Laktos	10,0
L-cystin	0,128
Bromtymolblått	0,02
Agar	15,0

pH 7,3 +/- 0,2

*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

IVD . Endast för professionellt bruk. ⓧ

Plattorna får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller annan försämring.

Se skriften **ALLMÄN BRUKSANVISNING** för information om aseptiska förfaranden vid hantering, biorisker och bortskaffning av använd produkt.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara plattorna mörkt vid 2 till 8 °C i originalomslaget efter mottagandet fram till dess de skall användas. Överhettnings och nedfrysning skall undvikas. Plattorna kan inokuleras fram till utgångsdatum (se etiketten på förpackningen) och inkuberas under rekommenderad inkubationsperiod.

Plattor från öppnade 10-plattförpackningar kan användas i en vecka vid förvaring i ren miljö vid 2 till 8°C.

KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

Inokulera representativa prover med följande stammar (för ytterligare information hänvisas till skriften **ALLMÄN BRUKSANVISNING**). Inkubera plattorna vid 35 ± 2 °C i en aerob miljö. Undersök plattorna vid 18 till 24 h för mängd av växt, pigmentering, kolonistorlek och inhibering av svärmning/spridning av *Proteus*.

Stammar	Växtresultat
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Växt; gula kolonier; gult medium
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Växt; färglösa till blåa kolonier; inhiberad svärmning; lätt spridning acceptabel
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Växt; färglösa till gula kolonier; gult medium
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Växt; gula, små kolonier; gult medium
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Växt; små kolonier, vita till gulaktiga; gult medium
Ej inokulerad	Gröna till blågröna

FÖRFARANDE

Tillhandahålllet material

BBL CLED-agar (90 mm **Stacker**-plattor). Mikrobiologiskt kontrollerade.

Material som ej medföljer

Extra odlingsmedier, reagenser och laboratorieutrustning efter behov.

Provtyper och provtagning

Detta medium används uteslutande för räkning och differentiering av bakterier i urin. Mittstråleurin, kateterurin eller urin tagen via suprapubisk blåspunktion kan användas (se även **KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR**). Iakttag aseptisk teknik vid tagning av urinprover. Urinen måste strykas direkt på mediet ej senare än 2 timmar efter provtagning eller skall förfaras i kylskåp (i högst 24 timmar) så att överväxt av infektiösa agens eller kontaminanter före inokulering av mediet förhindras.²⁻⁵

Testförfarande

Ta ett prov från den ospädda, välblandade urinen med en kalibrerad ögla (0,01 eller 0,001 mL). Kontrollera att ögla är ordentligt fylld med prov. Inokulera provet längs mitten av plattan med en enstaka strykning från vilken inokulatet därefter sprids ytterligare.^{4,5} Inkubera plattor i omgivande luft vid 35 ± 2 °C under 24 till 48 h.

Resultat

Typisk kolonimorfologi på **BD CLED Agar** är som följer:

Organismer	Växtresultat
<i>Escherichia coli</i>	Gula kolonier; opaka; gult medium
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Gula till vitblåa kolonier, ofta mukoida; gulaktigt medium
<i>Proteus</i>	Genomskinliga blå kolonier; blågrönt till blått medium
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gröna kolonier med typisk matt yta och grov periferi; blått medium
Enterokocker	Små, gula kolonier, ca 0,5 mm i diameter; gult medium
<i>Staphylococcus aureus</i>	Intensivt gula kolonier, jämn i färgen; gult medium
Koagulasnegativa stafylokocker	Svagt gula kolonier, mer opaka än <i>Enterococcus faecalis</i>

Beräkning och tolkning av resultat

Räkna antalet kolonier (CFU) på plattan. Om en 0,01 mL-ögla användes representerar varje koloni 100 CFU/mL urin, och om en 0,001 mL-ögla användes representerar varje koloni 1000 CFU/mL urin.⁵

Mittstråleurin och kateterurin: Enligt aktuella riktlinjer utgör en densitet på $\geq 10^5$ CFU/mL för ett enskilda isolat tecken på infektion, $< 10^5$ CFU/mL indikerar kontamination från uretra- eller vaginalfloran, och densiteter på mellan 10^4 och 10^5 CFU/mL bör utvärderas på nytt, baserat på den kliniska informationen.⁶

Kontaminerande bakterier uppträder vanligen i lågt antal med varierande kolonimorfologi.

Urin tagen via suprapubisk blåspunktion: Eftersom urinblåsan hos ej infekterade personer normalt är steril utgör varje CFU-värde tecken på infektion.

Urinpatogener kommer vanligtvis att ge höga räkningar med en jämn kolonimorfologi och måste subkultiveras direkt på rutinmedia för identifikation och resistensbestämning.^{5,6}

KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR

BD CLED-agar lämpar sig för isoleringen och räkningen av många olika aerobt växande mikroorganismer, som t.ex. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* och andra icke-fermenterande gramnegativa stavar, enterokocker, stafylokocker, *Candida* species och många andra mikroorganismer som återfinns i urinprover.

Streptokocker och andra organismer, som behöver blod eller serum för att växa, kan endast återvinnas bristfälligt på detta mediet eller kan behöva förlängd inkubation. Därför bör provet också odlas på en blodagarplatta om sådana organismer förväntas.

Urogenitala patogener såsom *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* eller andra kräsna organismer växer inte på detta mediet. Se referenserna för lämpliga detekteringstekniker av dessa organismer.⁴⁻⁶

Fastän en differentiering avseende laktosfermentering och att vissa diagnostiska tester kan utföras direkt på detta mediet, är biokemisk och, om så angetts, serologisk testning med rena kulturer nödvändig för fullständig identifikation.

REFERENSER

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. Barry, A.L., P.B. Smith, and M. Turck. 1975. Cumitech 2, Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Coordinating ed., T.L. Gavan. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. 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.
6. 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.

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

BD CLED Agar

Kat.nr 254003

Färdiga odlingsplattor, 20 plattor

Kat.nr 254070

Färdiga odlingsplattor, 120 plattor

YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.



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