BD CLED Agar

UTILIZARE SPECIFICĂ

BD CLED Agar (Cistină-Lactoză-Electrolit Deficient) este un mediu de cultură diferenţial utilizat în izolarea şi identificarea bacteriilor din urină. Acesta susţine creşterea agenţilor patogeni urinari şi a contaminanţilor, dar previne acumularea nedorită de specii *Proteus* din cauza lipsei de electroliţi.

PRINCIPIILE ŞI EXPLICAŢIILE PROCEDURII

Metodă microbiologică.
În 1960, Sandys a elaborat un raport privind dezvoltarea unei noi metode de prevenire a acumulării de *Proteus* în medii solide, limitând cantitatea de electroliţi în mediul de cultură care a fost modificat ulterior de mai multe ori pentru utilizarea în urocultură.[1-3]Acesta a fost denumit mediu Cistină-Lactoză-Electrolit Deficient (CLED) şi a fost raportat ca fiind ideal pentru tehnici de inoculare prin înmuiere şi pentru bacteriologia urinară în general.
Nutrienţii din **BD CLED Agar** sunt furnizaţi de peptonele gelatină şi cazeină precum şi de extractul de vită. Lactoza este adăugată pentru a asigura o sursă de energie pentru organismele capabile să o utilizeze printr-un mecanism de fermentaţie. Albastru de bromtimol este utilizat ca indicator pH pentru diferenţierea organismelor care asigură fermentaţia lactozei de organismele care inhibă fermentaţia lactozei. Organismele care asigură fermentaţia lactozei reduc valoarea pH şi schimbă culoarea mediului de la verde la galben. Cistina permite creşterea „coloniilor pitice” de bacterii coliforme.[3] Sursele de electrolit sunt reduse pentru a minimiza acumularea de specii *Proteus*. Astfel, mediul permite determinarea cantitativă a agenţilor patogeni din urină, inclusiv *Proteus*, atunci când pentru inoculare se utilizează anse calibrate.

REACTIVI

BD CLED Agar
Formulă* pentru un litru de apă purificată

Extract pancreatic de gelatină	4,0 g
Extract pancreatic de cazeină	4,0
Extract de vită	3,0
Lactoză	10,0
L-cistină	0,128
Albastru de bromtimol	0,02
Agar	15,0

pH 7,3 +/- 0,2
*Ajustată şi/sau suplimentată după cum este necesar pentru a îndeplini criteriile de performanţă.

PRECAUŢII

IVD . Numai pentru uz profesional.
Nu utilizaţi plăcile dacă prezintă semne de contaminare microbiană, decolorare, deshidratare, fisuri sau alte semne de deteriorare.
Consultaţi documentul **INSTRUCŢIUNI GENERALE DE UTILIZARE** pentru detalii referitoare la procedurile de manipulare aseptică, riscurile biologice şi înlăturarea produselor utilizate.

DEPOZITAREA ŞI DURATA DE DEPOZITARE

La recepţie, depozitaţi plăcile la întuneric la 2 până la 8°C, în ambalajul original până în momentul utilizării. Evitaţi congelarea sau supraîncălzirea. Plăcile pot fi inoculate până la expirarea termenului de valabilitate (consultaţi eticheta ambalajului) şi pot fi incubate pentru perioadele recomandate de incubare.

Plăcile dintr-un teanc de 10 plăci desfăcut pot fi utilizate timp de o săptămână dacă sunt depozitate într-o zonă curată între 2 şi 8°C.

CONTROLUL CALITĂŢII EFECTUAT DE UTILIZATOR

Inoculaţi probele reprezentative cu următoarele tulpini (pentru informaţii suplimentare, consultaţi documentul **INSTRUCŢIUNI GENERALE DE UTILIZARE**). Incubaţi plăcile la 35 ± 2°C în atmosferă aerobă.
Examinaţi plăcile după 18 până la 24 h pentru a observa gradul de creştere, pigmentarea, dimensiunea coloniilor, şi inhibarea acumulării/extinderii *Proteus*.

Tulpini	Rezultate de creştere
Escherichia coli ATCC 25922	Creştere; colonii galbene, mediu galben
Proteus vulgaris ATCC 8427	Creştere; colonii incolore spre albastre; acumulare inhibată, o uşoară extindere este acceptabilă
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Creştere; colonii incolore spre galbene; mediu galben
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Creştere; colonii mici, galbene; mediu galben
Staphylococcus saprophyticus ATCC 15305	Creştere; colonii mici, alb - gălbui; mediu galben
Neinoculat	Verde spre verde-albăstrui

PROCEDURĂ

Materiale furnizate
BD CLED Agar (plăci **Stacker** de 90 mm). Controlate microbiologic.

Materiale nefurnizate
Medii de cultură auxiliare, reactivi şi echipamentul de laborator necesar.

Tipuri de probe şi colectarea probelor
Acest mediu este utilizat exclusiv pentru enumerarea şi diferenţierea bacteriilor din urină. Poate fi utilizată urina obţinută de la mijlocul jetului, prin cateterizare sau prin puncţie suprapubiană (consultaţi şi **CARACTERISTICI DE PERFORMANŢĂ ŞI LIMITĂRILE PROCEDURII**).
Respectaţi tehnicile aseptice de colectare a probelor de urină. Trebuie efectuate striaţii cu urină direct pe mediu la nu mai târziu de 2 ore de la colectare sau urina trebuie păstrată refrigerată (nu mai mult de 24 de ore) pentru a evita creşterea şi dezvoltarea agenţilor infecţioşi şi a contaminanţilor înainte de inocularea pe acest mediu.[2-5]

Procedura de testare
Recoltaţi un eşantion de urină nediluată, bine amestecată, utilizând o ansă calibrată (0,01 sau 0,001 mL). Asiguraţi-vă de încărcarea corespunzătoare a ansei cu probă. Inoculaţi eşantionul printr-o singură trăsătură prin centrul plăcii, din care vor fi efectuate dispersări suplimentare ale inoculului.[4,5] Incubaţi plăcile la aer la 35 ± 2°C pentru 24 până la 48 h.

Rezultate
Morfologia tipică a coloniilor pe mediul **BD CLED Agar** este următoarea:

Organisme	Rezultate de creştere
Escherichia coli	Colonii galbene, opace; mediu galben
Klebsiella, Enterobacter	Colonii galbene spre alb-albăstrui, adesea mucoide; mediu gălbui
Proteus	Colonii albastre translucide; mediu albastru-verzui spre albastru
Pseudomonas aeruginosa	Colonii verzi cu suprafaţă mătuită tipică şi margini rugoase; mediu albastru
Enterococci	Colonii galbene mici, diametru circa 0,5%; mediu galben
Staphylococcus aureus	Colonii galben profund, culoare uniformă; mediu galben
Stafilococi coagulazo-negativi	Colonii galben pal, mai opace decât *Enterococcus faecalis*

Calcularea şi interpretarea rezultatelor
Numărați coloniile (UFC) de pe placă. Dacă a fost utilizată o ansă de 0,01 mL, fiecare colonie rezultată reprezintă 100 UFC/mL; dacă a fost utilizată o ansă de 0,001 mL, fiecare colonie corespunde la 1000 UFC/mL de urină.[5]
Urina obţinută din mijlocul jetului şi cu ajutorul cateterului: Actualmente se consideră că pentru un singur izolat, o densitate $\geq 10^5$ ufc/mL indică infecţie, $<10^5$ ufc/mL indică contaminare uretrală sau vaginală, iar între 10^4 şi 10^5 UFC/mL este necesară reevaluarea pe baza informaţiilor clinice.[6] Bacteriile de contaminare apar de obicei în număr mic, iar coloniile prezintă morfologii variate.
Urina recoltată prin puncţie vezicală suprapubiană: Deoarece vezica este sterilă la subiecţii fără infecţie, depistarea oricărui indice UFC indică o infecţie.

Agenţii patogeni din urină stimulează de regulă un număr mare de microorganisme cu morfologie colonială uniformă şi trebuie transferaţi în subculturi realizate direct pe medii de rutină pentru teste de identificare şi susceptibilitate.[5,6]

CARACTERISTICI DE PERFORMANŢĂ ŞI LIMITĂRILE PROCEDURII
Mediul **BD CLED Agar** este adecvat pentru izolarea multor microorganisme aerobe, cum ar fi *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* şi alţi bacili Gram negativi nefermentativi, enterococi, stafilococi, specii de *Candida* precum şi numeroase alte microorganisme din probele de urină.

Streptococii şi alte organisme care necesită sânge sau ser pentru creştere sunt recuperate insuficient pe acest mediu sau necesită incubare prelungită. De aceea, proba trebuie cultivată de asemenea pe o placă de agar sânge atunci când se suspectează prezenţa unor astfel de organisme.
Agenţii patogeni urogenitali cum ar fi *Neisseria gonorrhoeae, Gardnerella vaginalis, Chlamydia, Ureaplasma* sau alte organisme pretenţioase nu cresc pe acest mediu. Consultaţi referinţele pentru a afla tehnicile de detectare adecvate pentru aceste organisme.[4-6]
Deşi o diferenţiere pe baza capacităţii de fermentare a lactozei şi anumite alte teste de diagnostic pot fi realizate direct pe acest mediu, pentru o identificare completă este necesară testarea biochimică şi, dacă este indicat, testarea serologică utilizând culturi pure.

REFERINŢE

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. Yolken (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.

AMBALAJ/DISPONIBILITATE
BD CLED Agar

Nr. cat. 254003	Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 20 plăci
Nr. cat. 254070	Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 120 plăci

INFORMAŢII SUPLIMENTARE
Pentru informaţii suplimentare, contactaţi reprezentantul local 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