BD CLED Agar

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD CLED Agar** (Agar de cistina lactose deficiente em electrólitos) é um meio de cultura para diferenciação para utilizar no isolamento e enumeração de bactérias da urina. Este meio suporta o crescimento de agentes patogénicos e contaminantes urinários, mas evita a proliferação indevida de espécies de *Proteus* devido a ausência de electrólitos.

PRINCIPIO 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.[1-3] 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.

Os nutrientes no **BD CLED Agar** são fornecidos pelas peptonas de caseínas e gelatina e extracto de carne de vaca. A lactose foi incluída para fornecer uma fonte de energia para os organismos com capacidade para utilizá-la através de um mecanismo fermentativo. É utilizado o azul de bromotimol como um indicador de pH para diferenciar os fermentadores da lactose dos não fermentadores da lactose. Os organismos que fermentam a lactose irão reduzir o pH e alterar a cor do meio de verde para amarelo. A cistina permite o crescimento de bactérias coliformes "de colónias anãs".[3] As fontes de electrólitos são reduzidas para minimizar a proliferação de espécies de *Proteus*. Deste modo, o meio permite a determinação quantitativa de agentes patogénicos urinários incluindo o *Proteus* quando são utilizadas ansas calibradas para inoculação.

REAGENTES

BD CLED Agar

Fórmula* por Litro de Água Purificada

Hidrolisado pancreático de gelatina	4,0 g
Hidrolisado pancreático de caseína	4,0
Extracto de carne de vaca	3,0
Lactose	10,0
L-Cistina	0,128
Azul de bromotimol	0,02
Agar	15,0

pH 7,3 ± 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 ± 2°C numa atmosfera aeróbia.
Examinar as placas após 18 a 24 horas para registar o grau de crescimento, a pigmentação, o tamanho da colónia e a inibição da proliferação/propagação de *Proteus*.

Estirpes	Resultados de Crescimento
Escherichia coli ATCC 25922	Crescimento; colónias amarelas, meio amarelo
Proteus vulgaris ATCC 8427	Crescimento; colónias incolores a azuis; proliferação inibida; ligeira propagação aceitável
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Crescimento; colónias incolores a amarelas; meio amarelo
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Crescimento; colónias de pequena dimensão, amarelas; meio amarelo
Staphylococcus saprophyticus ATCC 15305	Crescimento; colónias de pequena dimensão, brancas a amareladas; meio amarelo
Não inoculadas	Verde a verde-azulado

PROCEDIMENTO

Materiais fornecidos

BD CLED Agar (placas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlados.

Materiais não fornecidos

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento de laboratório 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 horas após a colheita ou deve ser mantida no frigorífico (por um período inferior a 24 horas) para evitar o crescimento excessivo de agentes infecciosos ou contaminantes antes da inoculação deste meio.[2-5]

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.[4,5] Incubar as placas em ar ambiente, a uma temperatura de 35 ± 2° C, durante 24 a 48 horas.

Resultados
A morfologia típica das colónias no **BD CLED Agar** é a seguinte:

Organismos	Resultados de Crescimento
Escherichia coli	Colónias amarelas, opacas; meio amarelo
Klebsiella, Enterobacter	Colónias amarelas a azuis esbranquiçadas, muitas vezes mucóides; meio amarelado
Proteus	Colónias azuis translúcidas; meio verde azulado a azul
Pseudomonas aeruginosa	Colónias verdes com superfície típica mate e periferia irregular; meio azul
Enterococos	Colónias de pequena dimensão, amarelas com cerca de 0,5 mm de diâmetro; meio amarelo
Staphylococcus aureus	Colónias amarelas escuras, de cor uniforme; meio amarelo
Estafilococos negativos para a coagulase	Colónias amarelas pálidas, mais opacas que o *Enterococcus faecalis*

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.[5]
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.[6]
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.[5,6]

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO
O agar **BD CLED Agar** 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.

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 agar 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 apropriada para mais informações sobre as técnicas de detecção apropriadas relativamente a estes organismos.[4-6]
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 serológicos usando culturas puras.

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. 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.

EMBALAGEM / APRESENTAÇÃO

BD CLED Agar

Cat. No. 254003	Meios em placas prontos a usar, 20 placas
Cat. No. 254070	Meios em placas prontos a usar, 120 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