



BD CLED Agar (Bevis)

USO PREVISTO

BD CLED Agar (Bevis) es un agar CLED modificado (cistina y lactosa, deficiente en electrolitos). Es un medio de cultivo diferencial para uso en el aislamiento y recuento de bacterias en muestras de orina.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

En 1960, Sandys publicó el desarrollo de un nuevo método para evitar la proliferación de *Proteus* en medios sólidos, mediante la limitación de los electrolitos en el medio de cultivo, que fue modificado posteriormente varias veces para uso en el cultivo de orina¹⁻³. Fue designado como medio CLED (cistina y lactosa, deficiente en electrolitos) y se ha reseñado como ideal para técnicas de inmersión en inóculo y bacteriología urinaria en general. Bevis modificó el medio añadiendo indicador Andrade (fucsina ácida) al medio⁴. La combinación de los dos indicadores de pH, azul de bromotimol y fucsina ácida permite una mejor diferenciación de los organismos según las colonias y la coloración del medio^{4,5}.

En **BD CLED Agar (Bevis)**, la gelatina y las peptonas de caseína son fuentes de nitrógeno. El extracto de carne proporciona nutrientes adicionales. Se incluye lactosa en el medio con el objeto de proporcionar una fuente de energía para los microorganismos capaces de utilizarla a través de un mecanismo de fermentación. La cistina permite el crecimiento de los organismos coliformes de "colonias enanas". Como indicador del pH se utilizan azul de bromotimol y fucsina ácida para diferenciar los microorganismos fermentadores y no fermentantes de lactosa. Las fuentes de electrolitos se reducen para minimizar la proliferación de las especies de *Proteus*.

REACTIVOS

BD CLED Agar (Bevis)

Fórmula* por litro de agua purificada

Peptona de gelatina	4,0 g
Peptona de caseína	4,0
Extracto de carne bovina	3,0
Lactosa	10,0
L-cistina	0,13
Azul de bromotimol	0,02
Indicador Andrade (fucsina ácida)	0,1
Agar	15,0

pH 7,5 ± 0,2

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD . Solamente para uso profesional.

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura entre 2 y 8 °C, envueltas en su envase original, hasta justo antes de usarlas. Evitar la congelación y el calentamiento excesivo. Las placas pueden inocularse hasta su fecha de caducidad (ver la etiqueta en el paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Las placas de grupos de 10 placas ya abiertos pueden usarse durante una semana siempre que se almacenen en un lugar limpio a una temperatura entre 2 y 8 °C.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar las placas a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia.

Examinar las placas al cabo de 18 a 24 h para observar la extensión del crecimiento, la pigmentación, el tamaño de las colonias y la inhibición de la proliferación o propagación de *Proteus*.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Colonias de tamaño mediano a grande, de color rojo anaranjado con halos de color rosa a rojo
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Colonias de tamaño mediano a grande, de incoloras a azul grisáceas, proliferación inhibida de manera parcial o completa
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Colonias de tamaño pequeño a mediano, de color blanco a amarillo, con halos de color rosa a rojo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Colonias de tamaño mediano y color amarillo dorado con halos rosados
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Colonias de tamaño pequeño a mediano, de color blanco a rosa pálido, con halos rosas
Sin inocular	Azul

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD CLED Agar (Bevis), suministrado en placas **Stacker** de 90 mm. Controladas microbiológicamente.

Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos y recogida de las muestras

Este medio se utiliza exclusivamente para contar y diferenciar las bacterias presentes en la orina. Se puede utilizar la orina de la parte media de la micción, de la sonda o recogida mediante punción vesical suprapúbica (véase también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**). Emplear técnicas asépticas al recoger las muestras urinarias. Es preciso extender la orina directamente en el medio (sin dejar transcurrir más de 2 horas después de la recogida de la muestra) o bien refrigerarla (por no más de 24 horas) para evitar el crecimiento excesivo de los agentes infecciosos o contaminantes previamente a la inoculación de este medio^{6,7}.

Procedimiento de análisis

Recoger con un asa calibrada (0,01 o 0,001 mL) una muestra de orina no diluida, adecuadamente mezclada. Confirmar la obtención de una cantidad de muestra adecuada en el asa. Inocular la muestra en el centro de la placa en una única siembra a partir de la cual se efectúa la dispersión del inóculo^{6,7}. Incubar las placas en aire ambiente a una temperatura de 35 ± 2 °C, durante un período de 18 a 24 h.

Resultados

A continuación se indica el aspecto característico de las colonias en el **BD CLED Agar (Bevis)**:

Organismos	Resultados del crecimiento
<i>Escherichia coli</i>	Colonias de rojo anaranjado a rojo con halos de rojo rosado a rosa
<i>Proteus mirabilis</i>	Colonias transparentes de color verde azulado
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Colonias mucoides de color verde grisáceo o de naranja a azul
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colonias lisas, opacas, de color amarillo dorado con halos rosados

<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Colonias lisas, de color de blanco a rosa pálido, halos rosas
<i>Enterococcus faecalis</i>	Colonias pequeñas opacas, de color amarillo a naranja, con pequeños halos de rojo rosado a rosa

Recuento e interpretación de los resultados.

Contar el número de colonias (UFC) en la placa. Si se utiliza un asa de 0,01 mL, cada colonia resultante representa 100 UFC/mL; si se utiliza un asa de 0,001 mL, cada colonia corresponde a 1000 UFC/mL de orina^{6,7}.

Orina de la parte media de la micción y de sonda: Las pautas actuales indican que, para un único aislado, una densidad $\geq 10^5$ UFC/mL indica infección, $< 10^5$ UFC/mL indica contaminación uretral o vaginal, en tanto que se deben evaluar nuevamente las densidades entre 10^4 y 10^5 UFC/mL basándose en la información clínica^{6,7}.

Las bacterias contaminantes generalmente aparecen en escasas cantidades, que varían según la morfología colonial.

Orina recogida mediante punción vesical suprapúbica: Dado que la vejiga es estéril en los individuos no infectados, la detección de toda UFC indica una infección.

Los patógenos de la orina usualmente producen recuentos elevados de morfología colonial uniforme; debe hacerse un subcultivo de dichos organismos directamente en medios sistemáticos para su identificación y análisis de sensibilidad^{6,7,9}.

CARACTERISTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD CLED Agar (Bevis) es adecuado para el aislamiento y recuento en muestras de orina de numerosos microorganismos de crecimiento aerobio como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* y otros bacilos gram negativos no fermentadores, enterococos, estafilococos, especies de *Candida* y muchos más.

Resultados de rendimiento

En una evaluación interna, se analizó **BD CLED Agar (Bevis)** con cepas de *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus agalactiae* y *Candida albicans*⁸. La mayoría provenía de cepas de colección, pero también se incluyeron varios aislados clínicos. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** se utilizó como medio de referencia de crecimiento. Después de 20 h de incubación a 35 ± 2 °C, todas las cepas *Enterobacteriaceae* y *C. albicans* crecieron muy bien en el medio y produjeron las reacciones de color esperadas. El crecimiento de *S. agalactiae* fue aceptable. Las colonias fueron diminutas o pequeñas. A continuación se indican los resultados en detalle:

Especies	Resultados en BD CLED Agar (Bevis)
<i>Candida albicans</i>	Colonias blancuzcas, de diminutas a pequeñas, en un medio azul
<i>Citrobacter freundii</i>	Colonias rojas en un medio rojo
<i>Enterobacter cloacae</i>	Colonias rojas en un medio rojo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colonias rojas en un medio rojo
<i>Proteus mirabilis</i>	Colonias grisáceas en un medio azul; proliferación parcialmente inhibida
<i>Proteus vulgaris</i>	Colonias grisáceas en un medio azul; proliferación parcialmente inhibida
<i>Providencia stuartii</i>	Colonias de color azul pálido en un medio azul
<i>Salmonella Typhimurium</i>	Colonias de color azul pálido en un medio azul
<i>Serratia liquefaciens</i>	Colonias de color blanco grisáceo en un medio azul
<i>Shigella sonnei</i>	Colonias transparentes de color azul pálido en un medio azul
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Colonias naranjas, de diminutas a pequeñas, con halos de color rojo rosado a rosa en un medio rojo

Limitaciones del procedimiento

Los estreptococos y otros microorganismos que precisan sangre o suero para su crecimiento pueden no ser recuperados suficientemente en este medio o requerir una prolongada incubación. Por tanto, si se espera hallar tales microorganismos, se debe cultivar la muestra asimismo en una placa de agar sangre.

Los patógenos genitourinarios como *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* y otros microorganismos exigentes no crecen en este medio. Consultar las referencias para conocer las técnicas de detección adecuadas para los mismos⁶. Aunque en este medio puede efectuarse la diferenciación conforme a la fermentación de la lactosa y determinadas pruebas de diagnóstico, se precisa el análisis bioquímico y, en caso indicado, inmunológico, empleando cultivos puros para lograr la identificación completa⁹. CLED Agar (Bevis) no debe incubarse durante más de 24 h, ya que ello podría producir reacciones de cambio de color incorrectas.

REFERENCIAS

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.

ENVASE/DISPONIBILIDAD

BD CLED Agar (Bevis)

Nº de cat. 255529

Medios en placa listos para usar, 20 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de 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