BD CLED Agar

USO PREVISTO

BD CLED Agar (Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient Agar) è un terreno di coltura differenziale per isolare e contare i batteri nell'urina. Il terreno supporta la crescita dei patogeni e contaminanti dell'urina ma impedisce la sciamatura delle specie di *Proteus* per la mancanza di elettroliti.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.
Nel 1960, Sandys descrisse un nuovo metodo per impedire la sciamatura del *Proteus* sui terreni solidi riducendo gli elettroliti nel terreno di coltura; in seguito, il terreno è stato modificato a più riprese per consentirne l'uso con le colture di urina.[1-3] Il terreno è stato denominato Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient (CLED) ed è ritenuto ideale per gli inoculi in immersione e la batteriologia urinaria in generale.
Le sostanze nutrienti del **BD CLED Agar** sono i peptoni della gelatina e della caseina e l'estratto di carne bovina. Viene inserito anche il lattosio come fonte energetica per gli organismi che lo utilizzano attraverso un meccanismo fermentativo. Il blu bromotimolo è usato come indicatore del pH per differenziare i fermentatori del lattosio dai non fermentatori del lattosio. Gli organismi che fermentano il lattosio riducono il pH e modificano il colore del terreno da verde a giallo. La cistina permette la crescita di "colonie nane" di coliformi.[3] Le fonti di elettroliti vengono ridotte per contenere al minimo la sciamatura delle specie di *Proteus*. Il terreno, pertanto, consente di quantificare i patogeni urinari, inclusi il *Proteus*, effettuando l'inoculazione con anse calibrate.

REAGENTI

BD CLED Agar
Formula* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di gelatina	4,0 g
Digerito pancreatico di caseina	4,0
Estratto di carne bovina	3,0
Lattosio	10,0
L-cistina	0,128
Blu bromotimolo	0,02
Agar	15,0

pH 7,3 +/- 0,2
*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale.
Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento, incrinature o altri segni di deterioramento.
Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per ulteriori informazioni v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare le piastre a 35 ± 2 °C in atmosfera aerobica. Esaminare le piastre dopo 18 – 24 h per valutare il livello di crescita, la colorazione, le dimensioni delle colonie e impedire la sciamatura/diffusione del *Proteus*.

Ceppi	Risultati della crescita
Escherichia coli ATCC™ 25922	Crescita; colonie gialle, terreno giallo
Proteus vulgaris ATCC 8427	Crescita; colonie da incolori a blu; inibizione della sciamatura; lieve sciamatura tollerata
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Crescita; colonie da incolori a giallo; terreno giallo
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Crescita; colonie piccole e gialle; terreno giallo
Staphylococcus saprophyticus ATCC 15305	Crescita; colonie piccole, da bianche a giallastre; terreno giallo
Non inoculate	Da verde a verdazzurro

PROCEDURA

Materiali forniti

BD CLED Agar (piastre impilate **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipologia e prelievo dei campioni

Il terreno è utilizzato esclusivamente per la conta e la differenziazione dei batteri nelle urine. Si può usare l'urina della minzione o del catetere, o quella raccolta mediante puntura vescicale ipogastrica (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**). Osservare le tecniche asettiche per il prelievo dei campioni urinari. L'urina deve essere strisciata direttamente sul terreno non più tardi di 2 h dopo il prelievo o deve essere conservata nel refrigeratore (non oltre 24 h) per evitare l'eccessiva crescita degli agenti infettivi o eventuali contaminazioni prima dell'inoculazione del terreno.[2-5]

Procedura del test

Prelevare un campione di urina miscelata e non diluita usando un'ansa calibrata (0,01 o 0,001 ml). Verificare il corretto caricamento dell'ansa con il campione. Inoculare il campione a metà della piastra su una singola striscia e da qui estendere ulteriormente la diffusione dell'inoculo.[4,5] Incubare le piastre in aria ambiente a 35 ± 2 °C per 24 – 48 h.

Risultati

La morfologia tipica delle colonie su **BD CLED Agar** è la seguente:

Organismi	Risultati della crescita
Escherichia coli	Colonie gialle, opache; terreno giallo
Klebsiella, Enterobacter	Colonie da giallo a giallo-blu, spesso mucoidi; terreno giallo
Proteus	Colonie blu traslucido; terreno da verdazzurro a blu
Pseudomonas aeruginosa	Colonie verdi con tipica superficie opaca e periferia ruvida; terreno blu
Enterococchi	Colonie piccole e gialle, diametro di circa 0,5 mm; terreno giallo
Staphylococcus aureus	Colonie gialle profonde, colorazione uniforme; terreno giallo
Stafilococchi coagulasi-negativi	Colonie giallo pallido, più opache di quelle dell'*Enterococcus faecalis*

Calcolo e interpretazione dei risultati
Contare il numero di colonie (CFU) sulla piastra. Se è stata usata un'ansa da 0,01 ml, ogni colonia rappresenta 100 CFU/ml; se è stata usata un'ansa da 0,001 ml, ogni colonia corrisponde a 1000 CFU/ml di urina.[5]
Urina della minzione e del catetere: le linee guida vigenti prevedono che per un singolo isolato una densità di $\geq 10^5$ CFU/ml indica presenza di infezione, una densità $<10^5$ CFU/ml indica contaminazione uretrale o vaginale, mentre una densità tra 10^4 e 10^5 CFU/ml deve essere riesaminata alla luce delle informazioni cliniche.[6]
I batteri contaminanti in genere appaiono in numero ridotto e in colonie di differenti forme.
Urina prelevata mediante puntura vescicale ipogastrica: poiché la vescica è sterile nei soggetti non infetti, le CFU eventualmente osservate indicano presenza di un'infezione.

In genere, i patogeni dell'urina danno conte elevate per la forma uniforme delle colonie e devono essere trasferiti direttamente su terreni di routine per i test di identificazione e sensibilità.[5,6]

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA
BD CLED Agar è ideale per l'isolamento e la conta di numerosi microrganismi a crescita aerobica, quali *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* e altri bacilli Gram-negativi non fermentanti, enterococchi, stafilococchi, le specie di *Candida* e molti altri ancora presenti nei campioni urinari.

Gli streptococchi e gli altri organismi che richiedono sangue o siero per crescere sono difficilmente coltivabili su questo terreno o possono richiedere un'incubazione protratta. Il campione, pertanto, deve essere coltivato anche su una piastra di agar sangue se si prevede la presenza di tali organismi.
I patogeni genitourinari, quali *Neisseria gonorrhoeae, Gardnerella vaginalis, Chlamydia, Ureaplasma* o altri organismi esigenti non crescono su questo terreno. Consultare la bibliografia per stabilire le tecniche di rilevamento più adatte agli organismi.[4-6]
Benché sia possibile effettuare la differenziazione secondo la fermentazione del lattosio e altri test diagnostici direttamente su questo terreno, per l'identificazione completa è necessario ricorrere a test biochimici e, ove necessario, sierologici usando colture pure.

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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ
BD CLED Agar

N. di cat. 254003	Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20
N. di cat. 254070	Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 120

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.

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