



BD CLED Agar

USO PREVISTO

BD CLED Agar (Agar cistina-lactosa deficiente en electrolitos) es un medio de cultivo diferencial para aislar y contar las bacterias presentes en la orina. Favorece el crecimiento de los patógenos y contaminantes urinarios aunque, debido a la ausencia de electrolitos, impide la indebida proliferación de especies de *Proteus*.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

En 1960, Sandys publicó el desarrollo de un nuevo método para prevenir la proliferación de *Proteus* en medios sólidos mediante la restricción de electrolitos en un medio de cultivo que posteriormente se modificó en varias ocasiones para utilizarlo en los cultivos de orina¹⁻³. Se designó como medio Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient (CLED) y se proclamó que resultaba ideal para las técnicas de sumersión del inóculo y para la bacteriología urinaria en general. La gelatina, las peptonas de caseína y el extracto de carne bovina constituyen los nutrientes del **BD CLED Agar**. 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. Como indicador del pH se utiliza azul de bromotimol, para diferenciar los microorganismos fermentantes de lactosa y los no fermentantes. Los primeros reducen el pH y modifican el color del medio, pasando éste de verde a amarillo. La cistina permite el crecimiento de "colonias enanas" de coliformes³. Se reducen las fuentes de electrolitos con objeto de minimizar la proliferación de las especies de *Proteus*. De este modo, el medio permite la determinación cuantitativa de los patógenos urinarios, incluido el *Proteus*, si se emplean asas calibradas para la inoculación.

REACTIVOS

BD CLED Agar

Fórmula* por litro de agua destilada

Digerido pancreático de gelatina	4,0 g
Digerido pancreático de caseína	4,0
Extracto de carne bovina	3,0
Lactosa	10,0
L-cistina	0,128
Azul de bromotimol	0,02
Agar	15,0

pH 7,3 +/- 0,2

*Ajustada o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD . Para uso exclusivo por parte de profesionales. ⓧ

No usar placas que presenten señales de contaminación microbiana, decoloración, desecación, roturas u otras señales de deterioro.

Consultar en las **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO** los procedimientos de manipulación aséptica, peligros biológicos y eliminación del producto después de su 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 siguientes cepas (consultar las **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO** para obtener instrucciones detalladas). Incubar las placas a una temperatura de 35 ± 2 °C en un ambiente aerobio.

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 del *Proteus*.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crecimiento; colonias y medio de color amarillo
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Crecimiento; colonias desde incoloras hasta de color azul; inhibición de la proliferación; ligera propagación aceptable
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Crecimiento; colonias desde incoloras hasta de color amarillo; medio de color amarillo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crecimiento; colonias pequeñas, de color amarillo; medio de color amarillo
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Crecimiento; colonias pequeñas, color blanco a amarillento; medio de color amarillo
Sin inocular	Color verde a azul verdoso

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD CLED Agar (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliares, reactivos y 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 (ver 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 no más tarde de las 2 horas siguientes a la recolección de la muestra o bien refrigerarla (menos de 24 horas), a fin de evitar el crecimiento excesivo de los agentes infecciosos o contaminantes previamente a la inoculación de este medio²⁻⁵.

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 inoculo^{4,5}. Incubar las placas en aire ambiente a una temperatura de 35 ± 2 °C, durante un período de 24 a 48 h.

Resultados

La morfología característica de las colonias en **BD CLED Agar** es la siguiente:

Microorganismos	Resultados del crecimiento
<i>Escherichia coli</i>	Colonias amarillas, opacas, medio de color amarillo
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Colonias de color amarillo o blanco azulado, a menudo mucoides; medio de color amarillento
<i>Proteus</i>	Colonias de color azul traslúcido; medio de color azul o verdoso
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonias de color verde con superficie característicamente mate y bordes irregulares; medio de color azul
Enterococos	Colonias amarillas pequeñas, aproximadamente de 0,5 mm de diámetro; medio de color amarillo
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colonias de color amarillo intenso y uniforme; medio de color amarillo
Estafilococo coagulasa negativo	Colonias de color amarillo pálido, más opacas que las de <i>Enterococcus faecalis</i>

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 orina⁵.

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 clínica⁶.

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 éstos directamente en medios de rutina para su identificación y análisis de sensibilidad^{5,6}.

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD CLED Agar es adecuado para aislar y contar en las muestras de orina numerosos microorganismos de crecimiento aerobio como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* y otros bacilos gram-negativos no fermentantes, enterococos, estafilococos, especies de *Candida* y muchos más.

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 mismos⁴⁻⁶.

Aunque en este medio puede efectuarse la diferenciación conforme a la fermentación de la lactosa y ciertas otras pruebas de diagnóstico, se precisa el análisis bioquímico y, en caso indicado, serológico, empleando cultivos puros para lograr la identificación total.

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. 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. Tenover, 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.

ENVASE Y DISPONIBILIDAD

BD CLED Agar

Nº de cat. 254003

Medio en placas listo para su uso, 20 placas

Nº de cat. 254070

Medio en placas listo para su uso, 120 placas

INFORMACION 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