

BD CLED Agar

VERWENDUNGSZWECK

BD CLED Agar (Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient Agar, Elektrolytarmer Cystin-Lactose-Agar) ist ein Differenzierungs-Kulturmedium zur Isolierung und quantitativen Bestimmung von Bakterien im Urin. Es unterstützt das Wachstum von im Urin vorhandenen Krankheitserregern und Kontaminanten, verhindert jedoch ein übermäßiges Schwärmen von *Proteus*-Stämmen aufgrund seines Mangels an Elektrolyten.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

1960 berichtete Sandys über die Entwicklung einer neuen Methode zur Vorbeugung des Schwärmens von *Proteus*-Stämmen auf festen Medien durch Begrenzung der Elektrolyten im Kulturmedium, welche später mehrfach für die Anwendung in Urinkulturen modifiziert wurde.¹⁻³ Es wurde als Elektrolytarmer Cystin-Lactose-Medium (CLED) bezeichnet und als ideal für Dip-Slide-Techniken und die Bakteriologie des Urins im Allgemeinen beschrieben.

Die Nährstoffe in **BD CLED Agar** werden durch die Gelatine- und Casein-Peptone sowie durch Rindfleischextrakt geliefert. Lactose wird als Energiequelle für Organismen hinzugefügt, die die Fähigkeit besitzen, diese durch Fermentation zu nutzen. Bromthymolblau wird als pH-Indikator zur Differenzierung von Lactosefermentern und Nicht-Lactosefermentern verwendet.

Lactosefermentierende Organismen verringern den pH-Wert, wodurch sich das grüne Medium gelb färbt. Das Cystin ermöglicht das Wachstum von „Zwergkolonien“ coliformer Bakterien.³ Die Elektrolytquellen werden zur Einschränkung des Schwärmens von *Proteus*-Spezies reduziert. Das Medium ermöglicht somit die quantitative Bestimmung von Krankheitserregern im Urin, einschließlich der *Proteus*-Spezies, unter Verwendung von kalibrierten Ösen zur Inokulation.

REAGENZIEN

BD CLED Agar

Zusammensetzung* pro Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebaute Gelatine	4,0 g
Pankreatisch abgebautes Casein	4,0
Rindfleischextrakt	3,0
Lactose	10,0
L-Cystin	0,128
Bromthymolblau	0,02
Agar	15,0

pH 7,3 ± 0,2

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch. 

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum

Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.
Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Platten bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren.

Platten nach 18 bis 24 Stunden auf Wachstum, Pigmentierung, Koloniegröße und Hemmung des Schwärmens/Ausbreitens von *Proteus* überprüfen.

Stämme	Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Wachstum; gelbe Kolonien, gelbes Medium
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Wachstum; farblose bis blaue Kolonien; gehemmtes Schwärmen; leichte Ausbreitung ist akzeptabel
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Wachstum; farblose bis gelbe Kolonien; gelbes Medium
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Wachstum; kleine, gelbe Kolonien; gelbes Medium
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Wachstum; kleine, weiße bis gelbliche Kolonien; gelbes Medium
Nicht inokuliert	Grün bis blaugrün

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD CLED Agar (90 mm **Stacker**-Platten). Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten und Probenentnahme

Dieses Medium ist ausschließlich zur quantitativen Bestimmung und Differenzierung von Bakterien im Urin vorgesehen. Als Probe eignet sich Mittelstrahl- oder Katheterurin, oder Urin der mittels einer suprapubischen Blasenpunktion gewonnen wurde (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Bei der Gewinnung von Urinproben aseptische Kautelen beachten. Der Urin muss spätestens 2 Stunden nach der Probenentnahme direkt auf dem Medium ausgestrichen oder gekühlt aufbewahrt (nicht länger als 24 Stunden) werden, um ein Überwachsen der infektiösen Erreger oder Kontaminanten vor der Inokulation des Mediums zu verhindern.²⁻⁵

Testverfahren

Eine Probe des unverdünnten, gut durchmischten Urins unter Verwendung einer kalibrierten Impfföse (0,01 oder 0,001 mL) entnehmen. Auf die korrekte Füllung der Impfföse mit der Probe achten. Die Probe in der Mitte der Platte in einem einzigen Ausstrich inokulieren, von dem aus das Inokulat weiter verteilt wird.^{4,5} Platten an der Umgebungsluft 24 – 48 Stunden lang bei 35 ± 2 °C inkubieren.

Ergebnisse

Häufig isolierte Bakterienarten weisen auf **BD CLED Agar** das folgende Erscheinungsbild auf:

Organismus	Growth ResultsWachstum
<i>Escherichia coli</i>	Gelbe Kolonien, opak; gelbes Medium
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Gelbe bis weißlich-blaue Kolonien, oftmals mukoid; gelbliches Medium
<i>Proteus</i>	Durchsichtige blaue Kolonien; blau-grünes bis blaues Medium
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Grüne Kolonien mit typisch mattierter Oberfläche und ungleichmäßiger Peripherie; blaues Medium
Enterokokken	Kleine gelbe Kolonien, Durchmesser ca. 0,5 mm; gelbes Medium
<i>Staphylococcus aureus</i>	Tiefgelbe Kolonien, einheitliche Färbung; gelbes Medium
Koagulasenegative Staphylokokken	Hellgelbe Kolonien, opaker als <i>Enterococcus faecalis</i>

Berechnung und Interpretation der Ergebnisse

Die Anzahl der Kolonien (KBE) auf der Platte bestimmen. Bei Verwendung einer 0,01-mL-Impföse entspricht jede daraus resultierende Kolonie 100 KBE/mL Urin; Bei Verwendung einer 0,001-mL-Impföse entspricht jede Kolonie 1000 KBE/mL Urin.

Mittelstrahl- und Katheterurin: Nach aktuellen Richtlinien deutet eine Dichte von $\geq 10^5$ KBE/mL eines Isolats auf eine Infektion hin, eine Dichte von $<10^5$ KBE/mL deutet auf eine Kontamination der Harnröhre oder der Vagina hin und ein Wert zwischen 10^4 - 10^5 KBE/mL erfordert eine erneute Bewertung anhand der klinischen Informationen.⁶

Kontaminante Bakterien treten meist in geringer Zahl und mit unterschiedlicher Koloniemorphologie auf.

Urin, der durch suprapubische Blasenpunktur gewonnen wurde: Da die Harnblase bei infektionsfreien Patienten steril ist, deutet jede nachgewiesene KBE auf eine Infektion hin.

Krankheitserreger im Urin erbringen im Allgemeinen hohe Koloniezahlen mit einheitlicher Koloniemorphologie und müssen zur Identifizierung und Empfindlichkeitsprüfung direkt auf einem Routinemedium subkultiviert werden.^{5,6}

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD CLED Agar eignet sich zur Isolierung und quantitativen Bestimmung einer Vielzahl von aerob wachsenden Mikroorganismen, z.B. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* und weitere nicht-fermentierende gramnegative Stäbchen, Enterokokken, Staphylokokken, *Candida*-Spezies, und viele andere Spezies aus Urinproben.

Streptokokken und andere Organismen, die Blut oder Serum zum Wachstum benötigen, können möglicherweise nur unzureichend auf diesem Medium gewonnen werden oder erfordern unter Umständen eine verlängerte Inkubationszeit. Daher sollte die Probe bei Verdacht auf solche Organismen gleichzeitig auf einer Blutagarplatte kultiviert werden.

Erreger urogenitaler Infektionen wie *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* oder andere anspruchsvolle Organismen weisen auf diesem Medium kein Wachstum auf. Informationen über geeignete Nachweismethoden dieser Organismen sind der Literatur zu entnehmen.⁴⁻⁶

Obwohl eine Differenzierung anhand der Lactose-Fermentierung und bestimmte andere diagnostische Tests direkt auf diesem Medium durchgeführt werden können, sind für eine vollständige Identifizierung biochemische und, falls indiziert, serologische Tests unter Verwendung von Reinkulturen erforderlich.

LITERATUR

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. Tenenbaum (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.

LIEFERBARE PRODUKTE

BD CLED Agar

Best.-Nr. 254003

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

Best.-Nr. 254070

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 120 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



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