



## CLED Agar

Medium for the isolation, enumeration and differentiation of pathogenic bacteria in urine specimens.

### DESCRIPTION

CLED Agar is a medium used for microbiological urine analysis since it supports the growth of all urinary potential pathogens providing good colony differentiation.

### TYPICAL FORMULA

	(g/l)
Enzymatic Digest of Gelatin	4.0
Enzymatic Digest of Casein	4.0
Beef Extract	3.0
Lactose	10.0
L-Cystine	0.128
Bromothymol Blue	0.02
Agar	15.0
Final pH 7.3 ± 0.2 at 25°C	

### METHOD PRINCIPLE

Enzymatic digest of gelatin, enzymatic digest of casein and beef extract provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals required for organisms growth. Lactose is the fermentable carbohydrate. L-cystine is a growth supplement for cystine-dependent organisms. Bromothymol blue is the pH indicator changing color from green to yellow when lactose fermentation lowers the pH. Agar is the solidifying agent. Lack of electrolytes suppresses the swarming of *Proteus* and *Shigella* species.

### PREPARATION

<u>Dehydrated medium</u>	Suspend 36.1 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.
<u>Medium in bottles</u>	Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes.

### TEST PROCEDURE

Urine must be directly streaked over the agar surface no later than 2 h after collection or must be kept at 2-8°C (not longer than 24 h) to avoid microbial overgrowth. Use a calibrated loop (0.01 or 0.001 ml) to inoculate the medium with the undiluted, well-mixed urine sample. Incubate aerobically at 35 ± 2°C for 18-48 h.

### RESULTS INTERPRETATION

Count the number of colonies on the plate. Each colony correspond to 100 or 1000 CFU/ml of urine, using a 0.01 ml or 0.001 ml loop, respectively. Observe the color and the morphology of the colonies for presumptive identification according to the ID table. Further tests should be performed for confirmation.

#### ID Table.

Microorganism	Appearance of the colonies
<i>Escherichia coli</i>	Yellow, opaque
<i>Klebsiella, Enterobacter</i> spp	Yellow to whitish-blue, mucoid
<i>Proteus</i> spp	Translucent blue
<i>Salmonella</i> spp	Flat blue
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Green, matt surface and rough periphery
<i>Enterococcus</i> spp	Yellow, about 0.5 mm in diameter
<i>Staphylococcus aureus</i>	Deep yellow
Coagulase negative staphylococci	Pale yellow

### APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, light beige.  
Prepared medium: slightly opalescent, green to blue-green.

### STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and prepared plates at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

**SHELF LIFE**

Dehydrated medium: 4 years.  
 Medium in bottles: 2 years.  
 Ready-to-use plates: 6 months.

**QUALITY CONTROL**

Slides are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.  
 Inoculum for productivity: 50-100 CFU  
 Inoculum for selectivity: 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU  
 Incubation conditions: aerobically at 35 ± 2°C for 18-24 hours.

**QC Table.**

Microorganism		Growth	Specification
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Good	Yellow colonies
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 13883	Good	Yellow to whitish-blue colonies
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 12453	Good	Blue colonies, no swarming
<i>Salmonella</i> Typhimurium	ATCC® 14028	Good	Blue colonies
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853	Good	Green colonies
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Good	Yellow colonies
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Good	Small yellow colonies

**WARNING AND PRECAUTIONS**

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for *in vitro* diagnostic use only and must be used by properly trained operators only.

**DISPOSAL OF WASTE**

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulation in force.








**BIBLIOGRAPHY**

- Sandys G.H. (1960) A new method for preventing swarming of *Proteus* spp with a description of a new medium suitable for use in routine laboratory practice. J. Med. Lab. Technol. 17:224.
- Mackey J.P. and G.H. Sandys (1966) Diagnosis of urinary tract infections. Br. Med. J. 1:1173.

**PRESENTATION**

		Contents	Ref.
CLED Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates	10026
CLED Agar	90 mm ready-to-use plates	100 plates	10026*
CLED Agar	140 mm ready-to-use plates	10 plates	10236
CLED Agar	Bottles	6 x 100 ml bottles	402180
CLED Agar	Bottles	6 x 200 ml bottles	412180
CLED Agar	Bottles	6 x 500 ml bottles	470110
CLED Agar	Dehydrated medium	500 g of powder	610012
CLED Agar	Dehydrated medium	100 g of powder	620012
CLED Agar	Dehydrated medium	5 kg of powder	6100125

**TABLE OF SYMBOLS**

<b>LOT</b> Batch code	<b>IVD</b> <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
<b>REF</b> Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net





## CLED Agar

Terreno per l'isolamento, il conteggio e la differenziazione di batteri patogeni in campioni di urina.

### DESCRIZIONE

CLED Agar è un terreno utilizzato per l'analisi microbiologica delle urine in quanto supporta la crescita di tutti i potenziali patogeni urinari con buona differenziazione delle colonie.

### FORMULA TIPICA

	(g/l)
Digerito Enzimatico di Gelatina	4.0
Digerito Enzimatico di Caseina	4.0
Estratto di Manzo	3.0
Lattosio	10.0
L-Cistina	0.128
Blu di Bromotimolo	0.02
Agar	15.0
pH Finale 7.3 ± 0.2 a 25°C	

### PRINCIPIO DEL METODO

Digerito enzimatico di gelatina, digerito enzimatico di caseina ed estratto di manzo forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. Il lattosio è il carboidrato fermentabile. La cistina è un supplemento di crescita per gli organismi cistina-dipendenti. Il blu di bromotimolo è un indicatore di pH che cambia colore da verde a giallo quando i batteri che fermentano il lattosio provocano l'abbassamento del pH. L'agar è l'agente solidificante. La mancanza di elettroliti inibisce la diffusione delle specie di *Proteus* e *Shigella*.

### PREPARAZIONE

<u>Terreno disidratato</u>	Sospendere 36.1 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.
<u>Terreno in flaconi</u>	Sciogliere il contenuto di un flacone in bagnomaria a 100°C (con i tappi leggermente svitati) fino a completa dissoluzione del terreno. Verificare, una volta fuso, la buona omogeneità del terreno capovolgendo il flacone dopo averne avvitato il tappo. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene senza formazione di bolle. Versare in piastre Petri in condizioni di asepsi.

### PROCEDURA DEL TEST

Le urine devono essere strisciate direttamente sulla superficie dell'agar entro 2 ore dal prelievo, altrimenti bisogna conservarle a 2-8°C (non oltre le 24 ore) per evitare la proliferazione microbica. Utilizzare un'ansa calibrata (0.01 o 0.001 ml) per inoculare il terreno con il campione di urine non diluito e ben miscelato. Incubare in condizioni aerobiche a 35 ± 2°C per 18-48 ore.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Contare le colonie sulla piastra. Ciascuna colonia corrisponde a 100 o 1000 UFC/ml, se si è fatto uso di un'ansa da 0.01 ml o 0.001 ml, rispettivamente. Osservare il colore e la morfologia delle colonie per l'identificazione presuntiva secondo la tabella ID. Ulteriori test dovrebbero essere effettuati per la conferma.

#### Tabella ID.

Microrganismo	Aspetto delle colonie
<i>Escherichia coli</i>	Gialle, opache
<i>Klebsiella, Enterobacter</i> spp	Da gialle a biancastro-blu, mucoidi
<i>Proteus</i> spp	Traslucide blu
<i>Salmonella</i> spp	Piatte blu
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Verdi, superficie opaca e ruvide all'esterno
<i>Enterococcus</i> spp	Gialle, circa 0.5 mm di diametro
<i>Staphylococcus aureus</i>	Giallo scuro
Stafilococchi coagulasi negativi	Giallo chiaro

### ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige chiaro.  
Terreno preparato: da verde a blu-verde, leggermente opalescente.

### CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi e le piastre pronte a 10-25°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

**VALIDITÀ**

Terreno disidratato: 4 anni.  
 Terreno in flaconi: 2 anni.  
 Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

**CONTROLLO DI QUALITÀ**

Le piastre vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.  
 Inoculo per produttività: 50-100 UFC.  
 Inoculo per selettività: 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> UFC.  
 Condizioni di incubazione: ambiente aerobico a 35 ± 2°C per 18-24 ore.

**Tabella CQ.**

Microorganismo		Crescita	Specifiche
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Buona	Colonie gialle
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 13883	Buona	Colonie da gialle a blu-biancastre
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 12453	Buona	Colonie blu, nessuna diffusione
<i>Salmonella Typhimurium</i>	ATCC® 14028	Buona	Colonie blu
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853	Buona	Colonie verdi
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Buona	Colonie gialle
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Buona	Colonie piccole gialle

**AVVERTENZE E PRECAUZIONI**

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

**SMALTIMENTO DEI RIFIUTI**








Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

**BIBLIOGRAFIA**

- Sandys G.H. (1960) A new method for preventing swarming of *Proteus* spp with a description of a new medium suitable for use in routine laboratory practice. J. Med. Lab. Technol. 17:224.
- Mackey J.P. and G.H. Sandys (1966) Diagnosis of urinary tract infections. Br. Med. J. 1:1173.

PRESENTAZIONE		Contenuto	Ref.
CLED Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre	10026
CLED Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	100 piastre	10026*
CLED Agar	Piastre da 140 mm pronte all'uso	10 piastre	10236
CLED Agar	Flaconi	6 flaconi da 100 ml	402180
CLED Agar	Flaconi	6 flaconi da 200 ml	412180
CLED Agar	Flaconi	6 flaconi da 500 ml	470110
CLED Agar	Terreno disidratato	500 g di polvere	610012
CLED Agar	Terreno disidratato	100 g di polvere	620012
CLED Agar	Terreno disidratato	5 kg di polvere	6100125

**TABELLA DEI SIMBOLI**

<b>LOT</b> Codice del lotto	<b>IVD</b> Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
<b>REF</b> Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net





## CLED Agar

Medio para el aislamiento, contaje y diferenciación de bacterias patógenas en muestras de orina.

### DESCRIPCIÓN

CLED Agar es un medio de cultivo utilizado para el análisis microbiológico de la orina ya que permite el crecimiento de todos los patógenos potenciales del tracto urinario con una buena diferenciación colorimétrica de las diferentes colonias.

FÓRMULA	(g/l)
Digerido Enzimático de Gelatina	4.0
Digerido Enzimático de Caseína	4.0
Extracto de Carne	3.0
Lactosa	10.0
L-Cistina	0.128
Azul de Bromotimol	0.02
Agar	15.0
pH Final 7.3 ± 0.2 a 25°C	

### PRINCIPIO DEL MÉTODO

El digerido enzimático de Gelatina, digerido enzimático de Caseína y el extracto de Carne suministran los aminoácidos, nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales necesarios para el crecimiento de los microorganismos. La Lactosa es el carbohidrato fermentable. La L-cistina es el suplemento para el crecimiento de los microorganismos cistina-dependientes. El Azul de Bromotimol es el indicador de cambio de pH que cambia de verde a amarillo cuando las bacterias que fermentan la Lactosa provocan un descenso de pH. El agar es el agente solidificante. La falta de electrolitos inhibe la difusión de las especies *Proteus* y *Shigella*.

### PREPARACIÓN

<u>Medio deshidratado</u>	Suspender 36.1 g del polvo deshidratado en 1 litro de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Calentar hasta la ebullición removiendo frecuentemente hasta la completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
<u>Medio en botellas</u>	Disolver el contenido de la botella en un baño con agua a 100°C (con el tapón ligeramente desenroscado) hasta su completa disolución. Comprobar la homogeneidad del medio disuelto, girar la botella si es necesario para ayudar a la homogeneización. Enfriar a 45-50°C, mezclar bien evitando la formación de burbujas y distribuir en placas Petri de forma aseptica.

### PROCEDIMIENTO DEL TEST

Es preciso extender la orina en la superficie agarizada antes de las 2 h después de la recolección de la muestra o bien debe conservarse a 2-8°C (durante no más de 24 h) para evitar un sobrecrecimiento microbico. Utilizar un asa calibrada (0.01 o 0.001 ml) para inocular la placa con la muestra adecuadamente mezclada. Incubar en condiciones aeróbicas a 35 ± 2°C durante 18-48 h.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Contabilizar el número de colonias presentes en la placa. Cada colonia corresponde a 100 o 1000 CFU/ml de orina no diluida, si se usa un asa de 0.01 ml o 0.001 ml, respectivamente. Observar el color y morfología de las colonias para la identificación presuntiva siguiendo la siguiente tabla. Para una confirmación, se debería proceder con tests adicionales.

**Tabla de Identificación.**

Microorganismo	Aspecto de las colonias
<i>Escherichia coli</i>	Amarillo, opaco
<i>Klebsiella, Enterobacter</i> spp	Amarillo – blanco azulado, mucoides
<i>Proteus</i> spp	Azul translúcido
<i>Salmonella</i> spp	Azul
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Verde, superficie mate y bordes irregulares
<i>Enterococcus</i> spp	Amarillo, aproximadamente 0.5 mm de diámetro
<i>Staphylococcus aureus</i>	Amarillo intenso
Coagulase negative staphylococci	Amarillo pálido

### ASPECTO

Medio deshidratado: suelto, homogéneo, beige claro.  
Medio preparado: ligeramente opalescente, verde – azul verdoso.

### ALMACENAMIENTO

El polvo deshidratado es muy higroscópico, almacenar a 10-30°C, en un entorno seco, en su frasco original correctamente cerrado. Almacenar las botellas y las placas preparadas a 10-25°C fuera del contacto de la luz. No utilizar el producto fuera de la fecha de caducidad descrita en la etiqueta o si el producto presenta alguna muestra de deterioro o contaminación.

**SHELF LIFE**

Medio deshidratado: 4 años.

Medio en botellas: 2 años.

Placas preparadas: 6 meses.

**CONTROL DE CALIDAD**

Las placas se inoculan con las cepas indicadas en la siguiente tabla.

Inóculo para productividad: 50-100 CFU.

Inóculo para selectividad: 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU.

Condiciones de incubación: aeróbicas a 35 ± 2°C durante 18-24 horas.

**Tabla CC.**

Microorganismo		Crecimiento	Apariencia
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Bueno	Colonias amarillas
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 13883	Bueno	Colonias Amarillas – blanco azulado
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 12453	Bueno	Colonias azules localizadas
<i>Salmonella Typhimurium</i>	ATCC® 14028	Bueno	Colonias azules
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853	Bueno	Colonias verdes
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Bueno	Colonias amarillas
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Bueno	Colonias amarillas pequeñas

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

Este producto no contiene sustancias peligrosas en concentraciones que excedan los límites fijados por la legislación actual y no está clasificado como peligroso. Se recomienda de todas formas la lectura de la hoja de seguridad para el uso apropiado. El producto está pensado para un uso exclusivo de diagnóstico *in vitro* y debe ser utilizado sólo por operadores debidamente adiestrados.

**DESECHO DE RESÍDUOS**

El desecho de los residuos debe realizarse según la regulación nacional y local vigente.








**BIBLIOGRAFÍA**

- Sandys G.H. (1960) A new method for preventing swarming of *Proteus* spp with a description of a new medium suitable for use in routine laboratory practice. J. Med. Lab. Technol. 17:224.
- Mackey J.P. and G.H. Sandys (1966) Diagnosis of urinary tract infections. Br. Med. J. 1:1173.

**PRESENTACIÓN**

		Contenido	Ref.
CLED Agar	Placas de 90 mm listas para su uso	20 placas	10026
CLED Agar	Placas de 90 mm listas para su uso	100 placas	10026*
CLED Agar	Placas de 140 mm listas para su uso	10 placas	10236
CLED Agar	Botellas	6 x 100 ml botellas	402180
CLED Agar	Botellas	6 x 200 ml botellas	412180
CLED Agar	Botellas	6 x 500 ml botellas	470110
CLED Agar	Medio deshidratado	500 g de polvo deshidratado	610012
CLED Agar	Medio deshidratado	100 g de polvo deshidratado	620012
CLED Agar	Medio deshidratado	5 kg de polvo deshidratado	6100125

**TABLA DE SÍMBOLOS**

<b>LOT</b> Código de lote	<b>IVD</b> Sistema medico para el Diagnóstico <i>In vitro</i>	 Fabricante	 Utilizar antes de	 Frágil, manipular con cuidado
<b>REF</b> Número de catálogo	 Límites de temperatura	 Contenido suficiente para <n> análisis	 Atención, consultar el documento adjunto	 No reutilizar

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net

