

GELOSE CLED

DETECTION ET DENOMBREMENT DES MICROORGANISMES URINAIRES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose CLED (Cystine Lactose Electrolyte Deficient) est utilisée pour l'isolement, la numération et la différenciation des microorganismes urinaires.

2 HISTORIQUE

En 1960, Sandys a étudié un moyen permettant d'éviter l'envahissement des boîtes par les *Proteus*, en utilisant un milieu déficient en électrolytes, de manière à favoriser l'observation des colonies formées par les autres microorganismes. Le milieu a ensuite été modifié par Mackey et Sandys par incorporation de cystine pour favoriser la croissance des coliformes. Cette nouvelle formulation, appliquée à la bactériologie urinaire, a été utilisée avec succès dans la fabrication des lames gélosées destinées à être immergées dans les prélèvements.

3 PRINCIPES

La fermentation du lactose en acide est mise en évidence par le virage du vert au jaune de l'indicateur de pH, le bleu de bromothymol.

La cystine favorise la croissance des coliformes donnant habituellement de petites colonies sur d'autres milieux.

La déficience en électrolytes réduit l'envahissement du milieu par les *Proteus*.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine	4,0 g
- Tryptone	4,0 g
- Extrait de viande	3,0 g
- L-cystine	128,0 mg
- Lactose.....	10,0 g
- Bleu de bromothymol	20,0 mg
- Agar agar bactériologique	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,3 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 36,1 g de milieu déshydraté (BK020) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 115 °C pendant 20 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**
36,1 g/L

✓ **Stérilisation :**
20 min à 115 °C

6 MODE D'EMPLOI

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Ensemencer l'inoculum.
- Incuber à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

Note : Une durée d'incubation supérieure à 24 heures peut entraîner une ré-alcalinisation du milieu qui modifie la coloration des colonies.

7 LECTURE

L'aspect des microorganismes est le suivant :

Caractéristiques	Microorganismes
Grandes colonies jaunes d'or, entourées d'un halo jaune	<i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter</i>
Grandes colonies jaunes d'or, visqueuses, entourées d'un halo jaune	<i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i>
Grandes colonies transparentes, entourées d'un halo bleu	<i>Proteus</i> , <i>Serratia</i>
Grandes colonies vertes, à centre brunâtre, entourées d'un halo bleu	<i>Pseudomonas</i>
Petites colonies opaques, jaune pâle	streptocoques
Très petites colonies opaques, jaunes	staphylocoques
Colonies grises, de petite taille	corynébactéries

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose vert-bleuâtre, limpide.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 37 °C, méthode qualitative d'ensemencement

Microorganismes	Croissance	Caractéristiques
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00090	Bonne, score 2	Colonies jaunes à centre foncé
<i>Enterobacter aerogenes</i> WDCM 00175	Bonne, score 2	Colonies jaunâtres
<i>Salmonella Enteritidis</i> WDCM 00030	Bonne, score 2	Colonies bleues
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	Bonne, score 2	Colonies bleues, sans envahissement
<i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00034	Bonne, score 2	Colonies jaune foncé, de petite taille

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

Milieu préparé en boîtes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK020HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sandys, G.H. 1960. A new method of 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.

Benner, E.J. 1970. Simple disposable method for quantitative cultures of urine. Appl. Microbiol., 19 (3): 409.

12 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

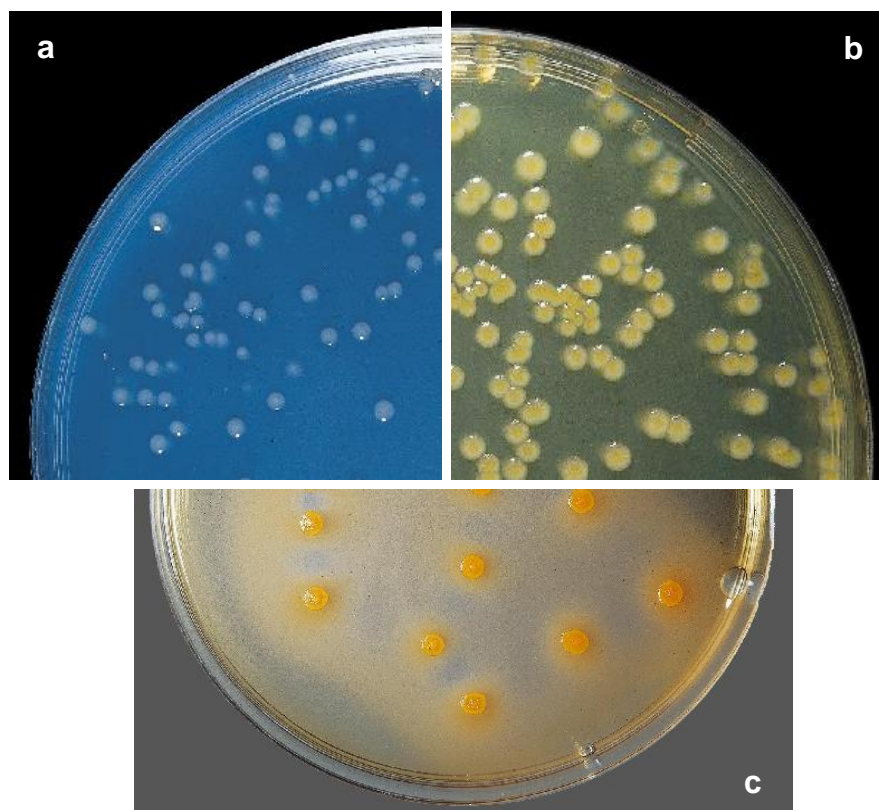
Code document : CLED_FR_V5.
Date création : 06-2003
Date de révision : 03-2016
Motif de révision : Révision générale.

Gélose CLED

Isolement, numération et différenciation des microorganismes urinaires.

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 37 °C.



- (a) *Proteus* : colonies transparentes, sur fond bleu (ou entourées d'un halo bleu), sans envahissement.
- (b) *Staphylococci* : petites colonies jaunâtres et opaques, sans halo.
- (c) *Escherichia coli* : grandes colonies jaunes à dorées, entourées d'un halo jaune.