

## BD CLED Agar (Bevis)

### APPLICATION

La **BD CLED Agar (Bevis)** (gélose CLED Bevis) est une version modifiée de la CLED (Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient) Agar (gélose CLED, carencée en cystéine-lactose-électrolyte). Il s'agit d'un milieu de culture différentiel utilisé pour l'isolement et l'énumération des bactéries dans l'urine.

### PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

En 1960, Sandys a rendu compte du développement d'une nouvelle méthode visant à empêcher l'essaimage de *Proteus* dans les milieux solides par la réduction du taux d'électrolytes dans le milieu de culture. Ce processus a été modifié à plusieurs reprises par la suite, en vue de son utilisation en uroculture.<sup>1-3</sup> Il a été rapporté que ce milieu, appelé Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient (CLED), était idéal pour les méthodes de la lame immergée, et pour la bactériologie urinaire en général. Bevis a modifié le milieu en y ajoutant l'indicateur d'Andrade (fuchsine acide).<sup>4</sup> La combinaison des deux indicateurs de pH, le bleu de bromothymol et la fuchsine acide, améliore la différenciation des microorganismes grâce à la coloration des colonies et du milieu.<sup>4,5</sup>

Dans la **BD CLED Agar (Bevis)**, les peptones de gélatine et de caséine constituent les sources d'azote, et l'extrait de bœuf apporte des nutriments supplémentaires. Le lactose incorporé dans cette gélose fournit une source d'énergie aux microorganismes qui sont capables de le métaboliser ; ceux-ci déclenchent alors un processus de fermentation. La cystéine permet la croissance de « colonies naines » de coliformes. Le bleu de bromothymol et la fuchsine acide agissent comme un système indicateur de pH pour différencier les fermentants des non-fermentants du lactose. Les sources d'électrolytes sont limitées afin de réduire l'essaimage des *Proteus* spp.

### REACTIFS

#### BD CLED Agar (Bevis)

Formule\* par litre d'eau purifiée

Peptone de gélatine	4,0 g
Peptone de caséine	4,0
Extrait de bœuf	3,0
Lactose	10,0
L-cystine	0,13
Bleu de bromothymol	0,02
Indicateur d'Andrade (Fuchsine acide)	0,1
Gélose	15,0

pH 7,5 ± 0,2

\*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

### PRECAUTIONS

**IVD** . A usage professionnel uniquement. 

Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

## STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas congeler ni surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.

Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

## CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus d'informations, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber les boîtes à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie.

Observer les boîtes de Pétri après 18 à 24 h et mesurer la croissance, la pigmentation, la taille des colonies et l'inhibition de l'essaimage/étalement de *Proteus*.

Souches	Croissance
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Colonies de taille moyenne à grande, de couleur rouge orangé avec des auréoles roses à rouges
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Colonies de taille moyenne à grande, incolores à gris-bleu, essaimage partiellement à complètement inhibé
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Colonies de taille petite à moyenne, blanches à jaunes avec des auréoles roses à rouges
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Colonies de taille moyenne or-jaune avec des auréoles roses
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Colonies de taille petite à moyenne, de couleur blanche à rose pâle avec des auréoles roses
Sans ensemencement	Bleu

## METHODE

### Matériaux fournis

**BD CLED Agar (Bevis)** (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produits contrôlés microbiologiquement.

### Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

### Types et prélèvement des échantillons

Ce milieu est utilisé exclusivement pour l'énumération et la différenciation des bactéries dans l'urine. Il est possible d'utiliser l'urine provenant du jet urinaire principal ou, d'un cathéter, ou prélevée lors d'une ponction vésicale sus-pubienne (voir également la rubrique **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**). Respecter les techniques d'asepsie lors du prélèvement des échantillons d'urine. L'urine doit être soit striée directement sur le milieu au plus tard 2 h après le prélèvement, soit conservée au réfrigérateur (24 h au maximum) afin d'éviter une croissance excessive des agents infectieux ou des contaminants avant l'ensemencement du milieu.<sup>6,7</sup>

### Mode opératoire du test

Prélever un échantillon d'urine non diluée et bien mélangée, à l'aide d'un ensemencateur à anse étalonné (0,01 ou 0,001 mL). Vérifier que l'ensemencateur à anse est correctement chargé d'échantillon. Ensemencer la boîte avec l'échantillon en effectuant une strie unique en son centre, à partir de laquelle un étalement supplémentaire de l'inoculum sera effectué.<sup>6,7</sup> Incuber les boîtes de Pétri à l'air ambiant à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 h.

### Résultats

Généralement, les colonies isolées sur la **BD CLED Agar (Bevis)** présentent la morphologie suivante :

Microorganismes	Croissance
<i>Escherichia coli</i>	Colonies de couleur rouge orangé à rouge, avec des auréoles rose pâle à rose plus foncé
<i>Proteus mirabilis</i>	Colonies bleu-vert transparentes
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Colonies gris-vert ou orange à bleu mucoïdes
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colonies lisses, opaques, or-jaune avec des auréoles roses
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Colonies lisses, de couleur blanche à rose pâle, avec des auréoles roses
<i>Enterococcus faecalis</i>	Colonies de petite taille, opaques, de couleur jaune à orange, avec de petites auréoles rose pâle à rose plus foncé

### Calcul et interprétation des résultats

Compter le nombre de colonies (UFC) dans la boîte de Pétri. En cas d'utilisation d'un ensementeur à anse de 0,01 mL, chaque colonie représente 100 UFC/mL. S'il s'agit d'un ensementeur à anse de 0,001 mL, chaque colonie correspond à 1 000 UFC/mL d'urine.<sup>6,7</sup>  
Urine provenant du jet urinaire principal ou d'un cathéter : Selon les standards actuels, une densité supérieure ou égale à 10<sup>5</sup> UFC/mL dans un même isolat indique une infection, une densité inférieure à 10<sup>5</sup> UFC/mL indique une contamination urétrale ou vaginale, et une densité comprise entre 10<sup>4</sup> et 10<sup>5</sup> UFC/mL nécessite une nouvelle évaluation basée sur des données cliniques.<sup>6,7</sup>

Les bactéries contaminantes apparaissent généralement en petit nombre, variable en fonction de la morphologie des colonies.

Urine prélevée lors d'une ponction vésicale sus-pubienne : La vessie des individus non infectés étant stérile, toutes les UFC détectées révèlent une infection.

Les agents pathogènes urinaires se développent généralement en grand nombre et constituent des colonies de morphologie uniforme. Ils doivent être repiqués directement sur des milieux de routine afin de procéder à des tests d'identification et de sensibilité.<sup>6,7,9</sup>

### CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD CLED Agar (Bevis)** convient à l'isolement et au dénombrement de nombreux microorganismes se développant en conditions aérobies, tels que les *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* et d'autres bâtonnets à Gram négatif non fermentants, les entérocoques, les staphylocoques, les *Candida* spp. et bien d'autres, présents dans les échantillons d'urine.

### Résultats des performances

Lors d'une évaluation interne, la **BD CLED Agar (Bevis)** a été testée avec des souches d'*Enterobacteriaceae*, de *Streptococcus agalactiae* et de *Candida albicans*.<sup>8</sup> La majorité des souches étaient issues de prélèvements, mais plusieurs isolats cliniques étaient également inclus. Une **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** a servi de milieu de référence de croissance. Après 20 h d'incubation à 35 ± 2 °C, tous les *Enterobacteriaceae* et *C. albicans* avaient proliféré et produit les réactions de couleurs attendues. *S. agalactiae* présentait un niveau de développement acceptable, et les colonies étaient minuscules à petites. Le détail des résultats obtenus était comme suit :

Species	Résultats obtenus sur BD CLED Agar (Bevis)
<i>Candida albicans</i>	Colonies de taille minuscule à petite sur un milieu bleu
<i>Citrobacter freundii</i>	Colonies rouges sur un milieu rouge
<i>Enterobacter cloacae</i>	Colonies rouges sur un milieu rouge
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colonies rouges sur un milieu rouge
<i>Proteus mirabilis</i>	Colonies grisâtres sur un milieu bleu ; essaimage partiellement inhibé
<i>Proteus vulgaris</i>	Colonies grisâtres sur un milieu bleu ; essaimage partiellement inhibé
<i>Providencia stuartii</i>	Colonies bleu pâle sur un milieu bleu
<i>Salmonella Typhimurium</i>	Colonies transparentes bleu pâle, sur un milieu bleu
<i>Serratia liquefaciens</i>	Colonies de couleur gris-blanc sur un milieu bleu
<i>Shigella sonnei</i>	Colonies transparentes bleu pâle sur un milieu bleu
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Colonies de taille minuscule à petite, présentant des auréoles rose pâle à rose plus foncé sur un milieu rouge

### Limites de la procédure

Les streptocoques et d'autres microorganismes dont la croissance nécessite du sang ou du sérum risquent d'être insuffisamment mis en évidence dans ce milieu ou de requérir une incubation prolongée. Par conséquent, si l'on recherche des microorganismes de ce type, il convient également de cultiver l'échantillon sur une boîte de gélose au sang.

Les agents pathogènes génito-urinaires tels que *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma*, ainsi que d'autres microorganismes exigeants, ne se développent pas dans ce milieu. Consulter les publications citées en référence pour connaître les techniques de détection de ces microorganismes.<sup>6</sup>

Il est certes possible d'obtenir une différenciation d'après la fermentation du lactose et de procéder à divers tests diagnostiques directement dans ce milieu, toutefois, pour obtenir une identification complète, il est nécessaire d'employer des tests biochimiques et, le cas échéant, immunologiques, portant sur des cultures pures.<sup>9</sup>

La CLED Agar (Bevis) ne doit pas être incubée au-delà de 24 h car cela risque de provoquer des réactions colorées erronées.

### REFERENCES

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. Bevis, T.D. 1968. A modified electrolyte deficient culture medium. Med. Lab. Technol. 25: 38-41.
5. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation – cultivation – identification - maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 65-68. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
6. 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. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. 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.
8. Data on file. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Germany.
9. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

### CONDITIONNEMENT

#### BD CLED Agar (Bevis)

N° réf. 255529

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

### INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant 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