

BD CLED Agar / MacConkey II-Agar (Biplate)

APPLICATION

La **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** (Gélose CLED Agar / Gèlose MacConkey II, en boîte de Pétri à deux compartiments) est utilisée pour l'analyse bactériologique dans les échantillons d'urine. La CLED Agar (déficiente en électrolyte, lactose et cystine) est un milieu de culture différentiel servant à l'isolement et à l'énumération des bactéries dans les échantillons d'urine. Elle favorise la croissance d'agents pathogènes et de contaminants urinaires mais empêche l'essaimage excessif des espèces de *Proteus* en raison de son absence d'électrolytes. La MacConkey II Agar (gélose MacConkey II BD) est un milieu différentiel sélectif servant à l'isolement et à la différenciation des *Enterobacteriaceae* et de nombreux autres bâtonnets Gram-négatifs issus d'échantillons cliniques et non cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Gélose CLED: En 1960, Sandys a signalé le développement d'une nouvelle méthode visant à empêcher l'essaimage de *Proteus* dans un milieu solide, notamment en réduisant le taux d'électrolytes dans le milieu de culture. Ce processus a été modifié plusieurs fois en vue de son utilisation en uroculture.¹⁻³ Ce milieu, appelé CLED (Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient – déficient en électrolyte, lactose et cystine), est idéal pour les techniques d'inoculum en immersion et la bactériologie urinaire en général.

Les éléments nutritifs de la CLED Agar sont fournis par les peptones de gélatine et de caséine ainsi que par l'extrait de bœuf. Le lactose présent dans cette gélose fournit une source d'énergie aux organismes qui déclenchent alors un processus de fermentation. Le bleu de bromothymol est utilisé comme indicateur de pH pour différencier les fermentants et les non-fermentants du lactose. Les organismes qui provoquent la fermentation du lactose abaissent le pH et font passer la couleur du milieu de vert à jaune. La cystine permet la croissance de coliformes de « colonie naine ».³ Les sources d'électrolyte sont limitées afin de réduire au maximum l'essaimage des espèces de *Proteus*. Ainsi, lorsqu'il est inoculé par l'intermédiaire d'un ensementeur à anse étalonné, ce milieu permet de déterminer la quantité d'agents pathogènes urinaires, notamment *Proteus*.

Gélose MacConkey II: Ce milieu a été développé par MacConkey en 1900 et 1905 pour l'isolement et différenciation des *Enterobacteriaceae* et certains non-fermentants.^{4,5} L'élaboration de cette préparation s'est appuyée sur deux données fondamentales : la précipitation des sels biliaires par les acides et la fermentation du lactose par certains microorganismes entériques exclusifs. Par la suite, ce milieu a été modifié à diverses reprises.^{6,7}

La MacConkey Agar n'est que légèrement sélective car la concentration de sels biliaires, qui inhibe les microorganismes Gram-positifs, est faible par rapport à celle d'autres milieux entériques. Ce milieu est recommandé pour les échantillons cliniques susceptibles de contenir un mélange de flores microbiennes : échantillons d'urine, respiratoires, prélevés sur des plaies, etc. En effet, il permet d'effectuer un groupement préliminaire des bactéries entériques et d'autres bactéries Gram-négatives dans les fermentants et non-fermentants du lactose.⁷⁻¹⁰

La MacConkey II Agar a été formulée pour mieux inhiber l'essaimage des espèces de *Proteus*, pour obtenir une différenciation plus nette des fermentants et non-fermentants du lactose et pour stimuler la croissance des bactéries entériques.

Dans la MacConkey II Agar, des peptones apportent les éléments nutritifs. Le cristal violet inhibe les bactéries Gram-positives, en particulier les entérocoques et les staphylocoques. Les microorganismes entériques sont différenciés par l'association du lactose et de l'indicateur de pH au rouge neutre. Des colonies incolores ou de couleur rose à rouge se développent en fonction de la capacité de l'isolat à provoquer la fermentation du glucide.

La présence de CLED Agar et MacConkey II Agar dans la boîte de Pétri à deux compartiments permet l'énumération et l'isolement des bactéries Gram-positives et Gram-négatives dans les échantillons d'urine.

REACTIFS

Formule* par litre d'eau purifiée

CLED Agar		MacConkey II Agar	
Digestion pancréatique de gélatine	4,0 g	Digestion pancréatique de gélatine	17,0 g
Digestion pancréatique de caséine	4,0	Digestion pancréatique de caséine	1,5
Extrait de bœuf	3,0	Digestion peptique de tissu animal	1,5
Lactose	10,0	Lactose	10,0
L-Cystine	0,128	Sels biliaires	1,5
Bleu de bromothymol	0,02	Chlorure de sodium	5,0
Gélose	15,0	Rouge neutre	0,03
pH 7.3 ± 0.2		Cristal violet	0,001
		Gélose	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

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

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement. 

Ne pas utiliser les boîtes de Pétri qui montrent des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou tout autre type de détérioration.

Consulter le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** » pour connaître les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques, ainsi que les méthodes d'élimination des produits utilisés.

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 êtreensemencées 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

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

Observez après 18 à 24 heures pour mesurer la croissance, la pigmentation, la taille des colonies et l'inhibition de l'essaimage/étalement de *Proteus*.

Souches	Gélose CLED	Gélose MacConkey II
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Croissance, colonies de couleur jaune, milieu jaune	Croissance, colonies de couleur rose
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Croissance, colonies incolores à bleues, essaimage inhibé, léger étalement acceptable	Croissance, colonies incolores à beiges, essaimage inhibé
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Croissance, colonies incolores à jaunes, milieu jaune	Inhibition partielle à complète
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Croissance, petites colonies de couleur jaune, milieu jaune	Inhibition partielle à complète
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Croissance, petites colonies de couleur blanc-jaune, milieu jaune	Inhibition partielle à complète
Non inoculé	Couleur verte à bleu-vert	Couleur rose clair, légèrement opalescente

METHODE

Matériel fourni

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate), en boîtes de Pétri de 90 mm à deux compartiments.

Produit soumis à contrôle microbiologique.

Matériel non fourni

Les milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types et prélèvement des échantillons

Ce produit est utilisé exclusivement pour l'énumération et la différenciation des bactéries dans les échantillons d'urine. L'urine provenant du jet urinaire principal, d'un cathéter ou celle prélevée lors d'une ponction vésicale sus-pubienne peut être utilisée (voir également la section « **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE** »).

Prélevez les échantillons d'urine en observant les techniques d'asepsie. L'urine doit être soit directement striée sur le milieu au plus tard 2 heures après le prélèvement, soit conservée au réfrigérateur (24 heures au maximum) afin d'éviter une croissance excessive des agents infectieux ou des contaminants avant l'inoculation sur ce milieu.⁸⁻¹¹

Mode opératoire du test

Pour ensemercer chacun des deux milieux dans la boîte de Pétri à deux compartiments, prélevez un échantillon d'urine non diluée et bien mélangée à l'aide d'un ensementeur à anse étalonné (0,01 ou 0,001 mL). Vérifiez que l'ensementeur à anse est correctement chargé d'échantillon. D'abord ensemercer la CLED Agar, et puis la MacConkey II Agar. Incubez les boîtes de Pétri à l'air ambiant à 35 ± 2 °C pendant 24 à 48 heures.

Calcul et interprétation des résultats

Comptez le nombre de colonies (UFC) sur la gélose CLED. Si un ensementeur à anse de 0,01 mL a été utilisé, 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.⁸

Urine provenant du jet urinaire principal et du cathéter : Selon les standards actuels, une densité supérieure ou égale à 10^5 UFC/mL dans un même isolat indique une infection, une densité inférieure à 10^5 UFC/mL indique une contamination urétrale ou vaginale, et une densité comprise entre 10^4 et 10^5 UFC/mL nécessite une nouvelle évaluation basée sur des données cliniques.⁸⁻¹¹

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

Sur la CLED Agar, les agents pathogènes urinaires se développent généralement en très grand nombre et se regroupent en colonies uniformes. Ils doivent alors être repiqués directement sur des milieux de routine pour procéder à des tests d'identification complète et de sensibilité.¹⁰⁻¹²

Les bactéries contaminantes apparaissent généralement en petit nombre, qui varie selon la morphologie des colonies. La CLED Agar permet la croissance des bactéries Gram-positives et Gram-négatives.

La croissance des colonies sur la gélose MacConkey II indique la présence des bacilles Gram-négatifs, par exemple des *Enterobacteriaceae* (comme *E. coli* et autres espèces de cette famille). Des bactéries Gram-positives sont inhibées sur ce milieu.

Généralement, les colonies isolées sur la **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate)** présentent la morphologie suivante:

Organismes	CLED Agar	MacConkey II-Agar
<i>Escherichia coli</i>	Colonies de couleur jaune, opaques, milieu jaune	Colonies de couleur rose à rose-rouge, parfois cernées par une zone de précipitation biliaire
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Colonies de couleur jaune à blanc/bleu, souvent muqueuses, milieu jaune	Muqueuse, colonies de couleur rose
<i>Proteus</i>	Colonies de couleur bleue translucide,	Colonies incolores, essaimage inhibé

	milieu bleu-vert à bleu	autour des colonies isolées*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies de couleur verte avec surface générale feutrée et périphérie rugueuse, milieu bleu	Irrégulière, colonies incolores à roses
Entérocoques	Petites colonies de couleur jaune, d'environ 0,5 mm de diamètre, milieu jaune	Inhibition partielle à complète
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colonies de couleur jaune foncé, teinte uniforme, milieu jaune	Inhibition partielle à complète
Staphylocoques coagulase-négatifs	Colonies de couleur jaune pâle, plus opaques que <i>Enterococcus faecalis</i>	Inhibition partielle à complète

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La CLED Agar sert à l'isolement et au dénombrement de nombreux microorganismes se développant en aérobie, tels que *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* et d'autres bâtonnets Gram-négatifs non-fermentants, entérocoques, staphylocoques, espèces de *Candida* et de nombreux autres présents dans les échantillons d'urine.

Les streptocoques, et certains autres organismes qui requièrent du sang ou du sérum pour assurer leur croissance, risquent d'être insuffisamment mis en évidence dans ce milieu, sauf à bénéficier d'une incubation prolongée. Par conséquent, si l'on recherche des organismes de ce type, il convient également de cultiver l'échantillon sur une gélose au sang.

A l'instar d'autres organismes exigeants, les agents pathogènes génito-urinaires tels que *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* ne se développent pas dans ce milieu. Pour connaître les techniques de détection de ces organismes, consulter les documents de référence.^{9,10,12}

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 mais, pour obtenir une identification complète, il convient d'employer des tests biochimiques et, si nécessaire, immunologiques, faisant appel à des cultures pures.

La MacConkey II Agar figure parmi les milieux utilisés en standard pour l'ensemencement primaire d'échantillons cliniques et de nombreuses matières non cliniques. Ce milieu favorise le développement de tous les organismes de la famille des *Enterobacteriaceae* ainsi que de nombreux autres bâtonnets Gram-négatifs, par exemple les *Pseudomonas* et les genres associés.⁵⁻⁹ Les non-fermentants se développent sur ce milieu s'ils sont résistants à ses composants sélectifs. Avant d'utiliser ce milieu pour des organismes spécifiques, consulter les chapitres correspondants dans les documents de référence.^{8,10}

Selon certaines sources, des *Enterobacteriaceae* et des *Pseudomonas aeruginosa* sont inhibées sur la MacConkey Agar lorsqu'elle est incubée sous une atmosphère enrichie en CO₂.¹³

Il est certes possible de procéder à divers tests diagnostiques directement dans ce milieu, mais, pour obtenir une identification complète, il convient d'employer des tests biochimiques et, si nécessaire, immunologiques, faisant appel à des cultures pures. Consulter les documents de référence appropriés.^{8,10,12}

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. MacConkey, A.T. 1900. Note on a new medium for the growth and differentiation of the *Bacillus coli communis* and the *Bacillus typhi abdominalis*. The Lancet, Part II:20.
5. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg. 5:333-379.
6. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.

7. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. 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.
9. Gatermann, S., et al. 1997. Harnwegsinfektionen. *In*: Mauch, H, et al. (ed.). MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologischen Diagnostik, vol. 2. Fischer Verlag, Stuttgart, Jena.
10. Gallien, R. 1988. Mikrobiologische Diagnostik in der ärztlichen Praxis – ein Leitfaden. Fischer Verlag, Stuttgart.
11. 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.
12. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO₂ vs. ambient incubation, abstr. C 179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.

CONDITIONNEMENT

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplate) (=Gélose CLED / Gélose MacConkey II [Boîte à deux compartiments])

N° réf. 257562

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

N° réf. 257680

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 120 unités



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 property of Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD