

GÉLOSE CLED

NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRECOULES PRÊTS A L'EMPLOI

1. Utilisation prévue

La gélose CLED est un milieu différentiel destiné à la détection qualitative et à l'isolement de microorganismes pathogènes dans des échantillons cliniques humains et d'autres échantillons.

La fonction de la gélose CLED est de soutenir le diagnostic, en particulier des patients atteints d'infections des voies urinaires. Les bacilles à Gram négatif tels que *Escherichia coli*, *Klebsiella* ou *Enterobacter*, ainsi que *Pseudomonas* et les bacilles aérobies apparentés, les entérocoques et staphylocoques à Gram positif peuvent se développer sur ce milieu. L'essaimage de *Proteus* est inhibée.

Tous les microorganismes sont des agents étiologiques courants des infections des voies urinaires, qu'il s'agisse d'infections nosocomiales ou communautaires. Cependant, le micro-organisme le plus commun isolé chez les patients atteints d'infections des voies urinaires est *Escherichia coli*. D'autres genres apparaissent un peu moins fréquemment, mais la fréquence de leur isolement augmente, en particulier dans les infections nosocomiales.

| Référence : | Type de milieu | Emballage: |
|-------------|---------------------------|-----------------------|
| 1030PD90 | Boîte de gélose précoulée | 2 x 10 boîtes (90 mm) |

2. Principe de procédure

La digestion enzymatique de la caséine, de la gélose et de l'extrait de bœuf fournit des nutriments. Le lactose est une source d'énergie pour les bactéries qui sont capables de l'utiliser par un mécanisme fermentatif. La détection de la capacité de la bactérie à fermenter le lactose est permise par la présence de bleu de bromothymol dans le milieu, qui est un indicateur de pH. Les bactéries fermentant le lactose abaissent le pH du milieu et le font passer du turquoise au jaune. L'ajout de L-cystéine favorise la croissance des bactéries coliformes cystéine-dépendantes. La réduction des électrolytes dans le milieu inhibe l'essaimage de *Proteus*, permettant d'effectuer des tests urinaires quantitatifs à l'aide d'une anse calibrée.

3. Composition moyenne

| En g/l d'eau distillée: | |
|------------------------------------|---------|
| Digeste enzymatique de la caséine | 4,0 g |
| Digeste enzymatique de la gélatine | 4,0 g |
| Extrait de bœuf | 3,0 g |
| Lactose | 10,0 g |
| L-cystéine | 0,128 g |
| Bleu de bromothymol | 0,02 g |
| Agar | 15,0 g |

pH 7,3± 0,2 à 25°C.

Aspect moyen - Clair, turquoise.

4. Préparation du milieu

Le milieu est prêt à l'emploi. Amener le milieu à température ambiante immédiatement avant utilisation.

5. Matériel nécessaire, non fourni

Équipement de laboratoire standard nécessaire pour effectuer des tests, y compris un incubateur ou un incubateur à atmosphère contrôlée.

6. Précautions

- Le produit est destiné à un usage professionnel uniquement.
- Produit non automatisé.
- Le milieu contient des composants d'origine animale, qui peuvent être associés à la présence d'agents pathogènes biologiques, et doit donc être manipulé conformément aux principes de manipulation des matières biologiques potentiellement infectieuses.
- Ne pas utiliser le milieu si celui-ci présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser les boîtes endommagées.
- Ne pas utiliser les boîtes après la date d'expiration.
- La ré incubation de boîte préalablement inoculée n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats de test corrects, suivre ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans le présent manuel, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

7. Stockage

Conserver les boîtes entre 2 et 12 °C jusqu'à la date de péremption. Conserver les boîtes dans leur emballage d'origine, en position inversée (côté gélose vers le haut), à l'abri des sources de lumière directe. Pour éviter la congélation de la gélose, ne pas conserver les boîtes près des parois du réfrigérateur. Pour éviter l'apparition de condensation d'eau sur le couvercle de la boîte, ne pas ouvrir le réfrigérateur plus souvent que nécessaire et ne pas stocker les boîtes dans un réfrigérateur trop rempli.

8. Péremption

Le milieu conservé à une température comprise entre 2 et 12°C conserve ses propriétés jusqu'à 3 mois à compter de la date de production.

9. Type d'échantillons

Échantillons cliniques humains, y compris les échantillons d'urine et autres échantillons.

Prélever les échantillons conformément aux lignes directrices en vigueur. Conservez les échantillons jusqu'à leur livraison au laboratoire conformément à la politique de stockage du laboratoire. Conserver l'urine dans un réfrigérateur à 4 °C (± 2 °C). Inoculer les échantillons dès que possible après la livraison du matériel au laboratoire.

10. Procédure du test

1. Laisser le milieu revenir à température ambiante avant de procéder à l'inoculation.
2. Inoculer l'échantillon en l'étalant directement sur la surface de la gélose.
3. Si l'échantillon est prélevé sur un écouvillon, faire tourner doucement l'extrémité de l'écouvillon sur une petite surface de gélose juste autour des bords de la boîte, puis inoculer l'échantillon en utilisant la méthode des stries à l'aide d'une anse stérile.
4. Incuber les plaques inoculées à 35 2°C pendant 18 à 24 heures.
5. Examiner le résultat de la croissance après 18 à 24 heures d'incubation.

Suivre les directives en vigueur lors de l'analyse des échantillons d'urine.

11. Lecture et interprétation

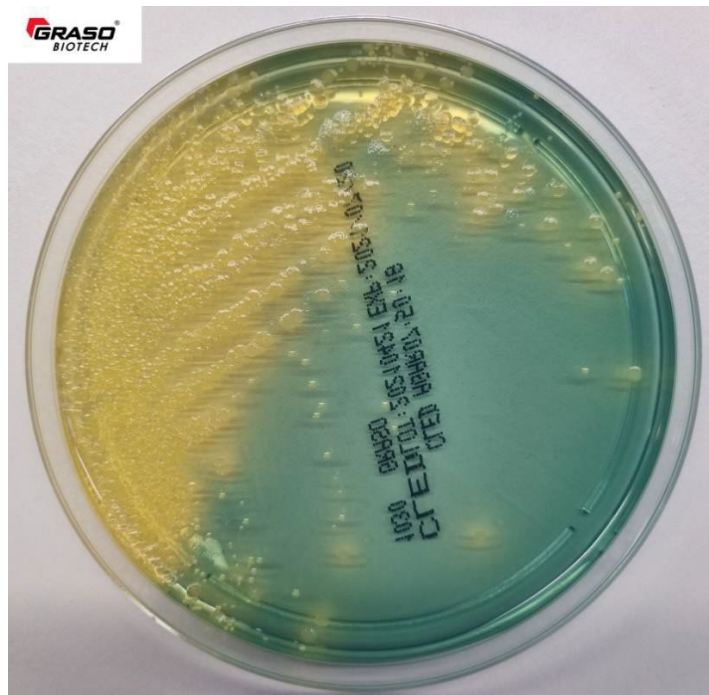
Après incubation, observer :
la présence de colonies bactériennes,
la morphologie des colonies,
les changements de couleur du milieu.

Compter les colonies sur le milieu et interpréter les résultats obtenus conformément aux directives en vigueur.

Morphologie typique des colonies cultivées sur la gélose CLED :

| Micro-organisme | Morphologie typique des colonies / couleur du milieu |
|-----------------------------------|--|
| <i>Escherichia coli</i> | Colonies jaunes opaques, coloration jaune du milieu |
| <i>Klebsiella, Enterobacter</i> | Jaune à bleu blanchâtre, colonies muqueuses, coloration jaune du milieu |
| <i>Proteus</i> | Colonies bleues transparentes, coloration turquoise du milieu |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Colonies vertes à surface mate et bords irréguliers, coloration turquoise du support |
| <i>Salmonella</i> | Colonies bleues et plates, coloration turquoise du milieu |
| <i>Enterococcus</i> | Petites colonies jaunes, coloration jaune du milieu |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Colonies jaunes, coloration jaune du milieu |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | Colonies jaune pâle, plus opaques que <i>Staphylococcus aureus</i> |

Pour l'identification définitive des micro-organismes en culture, des tests supplémentaires et/ou des tests d'identification doivent être effectués à l'aide d'autres méthodes utilisées en laboratoire.



Morphologie des colonies et schéma de croissance d'*Escherichia coli* sur gélose CLED

12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles et de différenciation du milieu doivent être vérifiées avec des souches de référence donnant des réactions positives et négatives. Le test doit être effectué en utilisant des cultures pures de 18 à 24 heures de souches de référence donnant les réactions souhaitées. Utiliser les souches de référence suivantes pour effectuer le contrôle de qualité du milieu :

| Souche de référence : | Intensité de la croissance : | Morphologie de la colonie : |
|---|------------------------------|-----------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | Bonne croissance | Grand, jaune, opaque |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 | Bonne croissance | Petit, jaune |

| | | |
|--|------------------|--------------------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | Bonne croissance | Jaune |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145 | Bonne croissance | Vert, mat avec des bords irréguliers |

D'autres souches de référence peuvent être utilisées conformément aux procédures et instructions du laboratoire. Les procédures de contrôle de la qualité doivent répondre aux exigences de la réglementation et des lignes directrices/recommandations applicables.

13. Limites de la méthode

- En raison de la variabilité de la valeur nutritionnelle du milieu, certaines souches peuvent mal se développer ou pas du tout sur la gélose CLED.
- Si la présence d'agents pathogènes tels que *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma* dans l'urine est suspectée, les cultures doivent être effectuées sur des milieux dédiés à la culture de ces micro-organismes.
- Bien que le milieu permette de différencier les micro-organismes en fonction de leur capacité à fermenter le lactose, des tests biochimiques et immunologiques supplémentaires sont nécessaires pour une identification définitive.

14. Caractéristiques de la méthode

Les infections urinaires sont les infections les plus courantes diagnostiquées dans les laboratoires de microbiologie de routine. Les principaux agents étiologiques sont des bacilles gram-négatifs de l'ordre des entérobactéries, principalement *Escherichia coli*, mais aussi *Klebsiella*, *Proteus* et *Enterobacter*. Les infections sont également causées par des cocci gram-positifs du genre *Enterococcus*, *Staphylococcus* ou *Streptococcus*. L'infection urinaire est le type le plus courant d'infection communautaire et nosocomiale.

Le diagnostic des infections urinaires repose sur la culture quantitative de l'urine à l'aide d'anses calibrées d'une capacité de 1 et 10 microlitres. L'ensemencement est le plus souvent réalisé sur gélose au sang et sur gélose MacConkey.

Un milieu alternatif pour la culture d'urine est la gélose CLED. Ce milieu contient dans sa composition tous les facteurs nécessaires à la croissance de la plupart des pathogènes isolés de l'urine. Munoz P. et ses collègues ont mené une étude prospective en aveugle comparant l'utilisation de la gélose CLED en tant que milieu unique pour le diagnostic des infections urinaires à la procédure classique de gélose au sang et de culture de MacConkey. 1157 échantillons d'urines ensemencés simultanément sur trois milieux ont été testés. Après une incubation de 20 à 22 heures à 37°C, les cultures ont été lues indépendamment par deux diagnosticiens. Les cultures ont été évaluées selon des critères standard, plus de 10(4) CFU/mL étant considérés comme significatifs. Le nombre de cultures positives, négatives et infectées était respectivement de 233, 764 et 160. La sensibilité et la spécificité du CLED étaient respectivement de 98% et 99%. Les micro-organismes fastidieux ont été détectés avec précision sur la gélose CLED ainsi que sur les milieux classiques. La différenciation morphologique des colonies était plus facile avec la gélose CLED et le temps d'inoculation était par conséquent plus court puisqu'il n'était pas nécessaire d'inoculer sur deux milieux. Comme la récupération microbienne sur la gélose CLED est similaire aux procédures standard, son économie et sa commodité en font un milieu qui mérite d'être utilisé pour les cultures urinaires de routine.

15. Élimination des matériaux usagés

Les matières usagées et non utilisées doivent être éliminées conformément à la réglementation en vigueur sur les déchets médicaux et aux procédures de laboratoire pour l'élimination des matières infectieuses et potentiellement infectieuses.

16. Déclaration des événements indésirables

Conformément à la réglementation en vigueur, les événements et incidents indésirables qui peuvent être directement liés au milieu décrit doivent être notifiés au fabricant et aux autorités compétentes.

17 Références















1. Mackey, J.P. and Sandys, G.H. (1966). Diagnosis of urinary infections. *Brit.Med.J.* 1: 1173.
2. Guttman, D and Naylor, G.R.E. (1967). Dip-slide: an aid to quantitative urine culture in general practice. *Brit.Med. J.* 3: 343-345.
3. 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.
4. Munoz P., Cercenado E., Rodriguez-Creixems M., Diaz M.D., Vicente T., Bouza E., The CLED agar option in urine culture routine. A prospective and comparative evaluation, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, May-June 1992, 287-90

Historique des modifications apportées au document

| Date du changement | Section | Description du changement |
|---------------------------|-----------------|---|
| 20/04/2023 | Document entier | Adaptation aux exigences du règlement UE 2017/746 |

NOTE

L'historique des révisions du document n'inclut pas les modifications rédactionnelles.

| SYMBOLE | NOM DU SYMBOLE | DESCRIPTION | REF. |
|---|--|--|-------|
|  | Fabricant | Indique le fabricant de l'instrument médical. | 5.1.1 |
|  | Date de fabrication | Indique la date après laquelle l'instrument médical ne doit plus être utilisé. | 5.1.3 |
|  | N° de catalogue | Indique le numéro de catalogue du fabricant afin que le dispositif médical puisse être utilisé. | 5.1.6 |
|  | Lot | Indique le code de lot du fabricant afin que le lot ou le lot puisse être identifié. | 5.1.5 |
|  | Dispositif médical de diagnostic in vitro | Indique un instrument médical destiné à être utilisé comme instrument médical de diagnostic in vitro. | 5.5.1 |
|  | Ne pas réutiliser | Indique un instrument médical destiné à un usage unique. | 5.4.2 |
|  | Contient suffisamment de tests <n> | Indique le nombre total de tests pouvant être effectués avec l'instrument médical. | 5.5.5 |
|  | Date limite d'utilisation | Indique la date après laquelle l'instrument médical ne doit plus être utilisé | 5.1.4 |
|  | Limite de température | Indique que les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure. | 5.3.7 |
|  | Symbole de sécurité (Respect des exigences de l'UE) | Le marquage CE sur un produit est une déclaration du fabricant attestant que le produit est conforme aux exigences essentielles des réglementations pertinentes de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement. | Nd. |
|  | Consulter le mode d'emploi ou consultez le mode d'emploi électronique | Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter le mode d'emploi. | 5.4.3 |
|  | Stériliser à l'aide de techniques de traitement aseptique | Indique un instrument médical qui a été fabriqué à l'aide de techniques aseptiques acceptées. | 5.2.2 |
|  | Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter le mode d'emploi | Indique qu'un instrument médical qui ne devrait pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur devrait consulter le mode d'emploi pour obtenir des renseignements sur la dépendance. | 5.2.8 |
|  | Contient du matériel biologique d'origine animale | Indique un instrument médical qui contient des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale | 5.4.8 |




Gras Zenon Sobiecki
Cercle 4A; 8200 Starogard Gdanski
www.grasobiotech.pl

Département de production
Forêt 1, Owidz
83-211 Jabłowo

