



BBL OF Basal Medium
BBL OF Medium with Dextrose
L007484 • Rév. 10 • Avril 2015



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

L'OF Basal Medium, complémenté avec un hydrate de carbone approprié, sert à mesurer les activités métaboliques oxydatives et fermentatives des bacilles à Gram négatif.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Desserrer les bouchons, porter le milieu à ébullition dans un bain d'eau bouillante* pendant environ 2 min avant utilisation. Laisser refroidir jusqu'à la température ambiante.
***REMARQUE :** Il n'est pas recommandé d'utiliser un four à micro-ondes.
2. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Ensemencer deux tubes de chaque milieu en piquant une fois le milieu à l'aide d'un ensementeur à fil droit et l'introduire presque jusqu'au fond du tube. Utiliser des cultures en gélose de soja **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II) âgées de 18 à 24 h comme inoculum.
 - b. Recouvrir le milieu d'un tube de chaque paire avec 1,0 mL d'huile minérale stérile. Inclure des tubes de contrôle non ensemencés (recouverts et non recouverts d'huile).
 - c. Incuber les tubes à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie.
3. Examiner les tubes après 18 à 24 h et 42 à 48 h pour déceler une éventuelle croissance ou des signes de réaction.
4. Résultats attendus

Milieu	Microorganisme	ATCC	Réaction	
			Non recouverte	Recouverte d'huile
OF Basal Medium	* <i>Acinetobacter baumannii</i>	19606	–	–
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	–	–
	* <i>Shigella sonnei</i>	9290	–	–
OF with Dextrose	* <i>Alcaligenes faecalis</i>	19018	–	–
	* <i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	A	A
	* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	A	–
	* <i>Shigella sonnei</i>	9290	A	A

Légende :A = acide (jaune),

– = inchangé (vert) ou alcalin (bleu)

*Souche recommandée pour le contrôle de qualité par l'utilisateur.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des tubes représentatifs pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Mesurer le pH par potentiométrie à température ambiante et s'assurer qu'il est conforme à la spécification de $6,8 \pm 0,1$ pour le milieu OF Medium with Dextrose et $6,8 \pm 0,2$ pour le milieu OF Basal Medium.
4. Incuber des tubes représentatifs non ensemencés entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C, et les examiner après 7 jours pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

Les milieux OF (oxydation/fermentation) servent à évaluer le métabolisme oxydatif et fermentatif des hydrates de carbone par les bacilles à Gram négatif sur la base d'une réaction acide en système ouvert ou fermé.

V RESUME ET EXPLICATION

L'OF Medium a été mis au point par Hugh et Leifson, qui ont décrit l'importance taxonomique du métabolisme fermentatif par opposition au métabolisme oxydatif des hydrates de carbone par les bactéries à Gram négatif.¹ Ils ont montré qu'en ensemençant deux tubes d'OF Basal Medium contenant un hydrate de carbone avec un microorganisme et en recouvrant de vaseline le milieu de l'un des tubes avant l'incubation, les profils métaboliques différentiels obtenus sont significatifs. Les microorganismes oxydatifs produisent uniquement une réaction acide dans le tube ouvert, avec peu ou pas de croissance et aucune formation d'acide dans le tube recouvert. Les microorganismes fermentatifs produisent une réaction acide dans les deux types de tube.

Les changements observés dans la gélose recouverte sont considérés comme étant dus à une fermentation vraie, alors que les changements qui interviennent dans les tubes ouverts sont dus à une utilisation oxydative de l'hydrate de carbone présent. Si l'hydrate de carbone n'est utilisé par aucune des deux voies métaboliques, il n'y a aucune production d'acide dans les deux tubes.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Le milieu contient une concentration d'hydrates de carbone ajoutés élevée par rapport à la concentration de peptone, afin d'éviter une utilisation de la peptone par un microorganisme aérobique et la production d'une réaction alcaline qui neutraliserait la légère acidité produite par un microorganisme oxydatif.² Le phosphate bipotassique confère une capacité tampon au milieu. La gélose permet d'évaluer la motilité et facilite une égale répartition de l'acide produit en surface du milieu.³

Le dextrose est l'hydrate de carbone le plus important à utiliser dans l'OF Basal Medium ; cependant, certains microorganismes sont capables de métaboliser d'autres hydrates de carbone, même s'ils sont incapables d'utiliser le dextrose.

VII REACTIFS

OF Basal Medium

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate bipotassique	0,3 g
Gélose	2,5 g
Bleu de bromothymol	0,03 g

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

L'OF Medium with Dextrose contient les ingrédients répertoriés ci-dessus, ainsi que 10,0 g de dextrose par litre.

Avertissements et précautions : Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Respecter les techniques d'asepsie et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Stériliser à l'autoclave les tubes préparés, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation : Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité, à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Maintenir à l'abri de la lumière. Conservés comme indiqué sur l'étiquette, les milieux en tube peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption et incubés pendant les durées d'incubation recommandées.

Détérioration du produit : Ne pas utiliser les tubes s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Ce produit n'est pas conçu pour réaliser une culture directe d'échantillons cliniques ou de cultures mixtes. Le microorganisme à tester doit tout d'abord se trouver en culture pure.

IX METHODE

Matériel fourni : OF Basal Medium ou OF Medium with Dextrose

Matériaux requis mais non fournis : Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test : Respecter les techniques d'asepsie.

Desserrer les bouchons, porter le milieu à ébullition dans un bain d'eau bouillante* pendant environ 2 min avant utilisation. Laisser refroidir jusqu'à la température ambiante.

Ensemencer une paire de tubes OF avec chaque microorganisme à tester. Piquer les tubes jusqu'à environ un demi-centimètre du fond à l'aide d'un ensementeur à fil droit chargé d'un faible inoculum. Recouvrir le milieu d'un tube de chaque paire avec 1,0 mL d'huile minérale stérile. Inclure des tubes de contrôle non ensemencés (recouverts et non recouverts d'huile).

Incuber les tubes à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobique pendant 48 h. Ne pas conclure à un test négatif avant 4 jours d'incubation.

***REMARQUE :** Il n'est pas recommandé d'utiliser un four à micro-ondes.

Contrôle de qualité par l'utilisateur : Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

Une seule électrode d'une taille suffisamment petite pour pénétrer dans les tubes devrait être utilisée pour déterminer potentiométriquement le pH des milieux en tubes. L'extrémité de l'électrode doit être placée au centre de la masse gélosée dans le milieu semi-solide.

X RESULTATS

Reporter les résultats comme acide (A), alcalin ou inchangé (–). Indiquer également si le microorganisme est motile, comme le montre l'apparition d'une croissance bactérienne en dehors de la ligne d'ensemencement. Les profils de réaction typiques sont les suivants :^{2,3}

Réaction	Tube avec réaction	Tube ouvert	Tube recouvert
Oxydation (O)	Ouvert	Jaune (A)	Vert (–)
Fermentation (F)			
Anaérogène	Tube recouvert	Jaune (A)	Jaune (A)
Aérogène	Tube recouvert	Jaune (A)	Jaune (A)
Ni oxydation ni fermentation (–)	Aucune*	Bleu ou vert (–)	Vert (–)
Oxydation et fermentation (O/F)	Les deux	Jaune (A)	Jaune (A)

A = production d'acide

– = aucun changement ou alcalin

* = Lecture du témoin hydrate de carbone non ensemencé ; absence de virage coloré.

XI LIMITES DE LA PROCEDURE⁴

La réaction acide produite par les microorganismes oxydatifs est visible tout d'abord en surface et s'étend graduellement à la totalité du milieu. Lorsque l'oxydation est faible ou lente, une réaction alcaline peut être observée initialement en surface du tube ouvert et persister pendant plusieurs jours, mais en définitive une réaction acide sera obtenue.

Les microorganismes incapable d'hydrolyser le saccharose produisent une légère alcalinité dans le tube ouvert (bleu vert), mais un virage coloré (vert) est visible dans le tube recouvert d'huile.

Pour procéder à l'identification, les microorganismes doivent se trouver en culture pure. L'identification définitive nécessite des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.^{2,5-7}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

OF Basal Medium

Les caractéristiques de performances de tous les lots de OF Basal Medium sont testées en usine. Des échantillons sont ensemencés directement en piquant deux tubes de milieu avec des cultures d'*Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Shigella sonnei* ATCC 9290 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 sur gélose de soja **BBL Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood, âgées de 18 à 24 h. Un tube de chaque microorganisme est recouvert avec 1 mL d'huile minérale stérile. Les tubes sont incubés, bouchons desserrés, à une température comprise entre 35 et 37 °C, pendant 2 jours, en atmosphère aérobie. Aucun changement de couleur n'est observé pour aucun microorganisme, avec ou sans huile minérale recouvrant le milieu.

OF Medium with Dextrose

Kantor et al. ont mis au point un schéma d'identification rapide et simplifié, utilisant un minimum de 3 tests et un maximum de 7 tests, qui peuvent être utilisés en routine par les laboratoires pour identifier les bactéries à Gram négatif non fermentantes. Au total, 229 microorganismes à Gram négatif non fermentants et 14 souches de référence ont été identifiés en utilisant ce schéma d'identification. Les trois tests principaux utilisés pour subdiviser les microorganismes non fermentants étaient l'OF Basal Medium with Glucose (Dextrose) et les tests de l'oxydase et de la motilité. L'OF glucose a servi à faciliter la détermination d'*Acinetobacter*. Pour les microorganismes oxydase positifs et non motiles, l'OF glucose a servi à faciliter la distinction entre *Moraxella* sp. et *Flavobacterium* sp. L'OF glucose a servi à différencier *Pseudomonas alcaligenes* des autres *Pseudomonas* sp. oxydase positifs et motiles.⁸

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf. Description

221326	BD BBL OF Basal Medium, coffret de 10 tubes de taille K
221328	BD BBL OF Medium with Dextrose, coffret de 10 tubes de taille K
221329	BD BBL OF Medium with Dextrose, carton de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES

1. Hugh, R., and E. Leifson. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.* 66:24-26.
2. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Shigei, J. 1992. Test methods used in the identification of commonly isolated aerobic gram-negative bacteria. Oxidation-fermentation test, p. 1.19.50-1.19.53. *In* H.D. Isenberg (ed.), *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Miller, J.M., H.T. Holmes, and K. Krisher. 2003. General principles of specimen collection and handling, p. 55-66. *In* P.R. Murray, 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.
6. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
7. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 5th ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.
8. Kantor, L.T., S.D. Kominos, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *Am. J. Med. Technol.* 41:3-9.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD