BBL Blood Agar Slants

L007436 • Rev. 09 • Octobre 2015

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE (Facultatif)

I INTRODUCTION

La Blood Agar est un milieu enrichi servant à l'isolement et au développement des microorganismes exigeants ainsi qu'à la détermination des réactions hémolytiques.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
   a. Utiliser une anse calibrée (0,01 mL) pour ensemencer en stries les surfaces inclinées avec des cultures de **Trypticase** Soy Broth diluées au 1/10 et âgées de 18 à 24 heures.
   b. Incuber les cultures, avec les bouchons desserrés, en atmosphère aérobie, à une température de 35 ± 2° C complémentée au dioxyde de carbone.
2. Examiner les tubes au bout de 24 h afin de contrôler la croissance et l'hémolyse.
3. Résultats attendus

Organismes de contrôle du CLSI (souches ATCC)

**Streptococcus pyogenes* ..... Croissance, bêta-hémolyse (19615)
**Streptococcus pneumoniae*..... Croissance, alpha-hémolyse (6305)
**Staphylococcus aureus*..... Croissance (25923)
**Escherichia coli*..... Croissance (25922)

*Souche recommandée pour le contrôle de qualité réalisé 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. 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

La version inclinée de Blood Agar (gélose au sang), une gélose **Trypticase** Soy Agar additionnée de 10 % de sang de mouton, est utilisée pour la culture et la conservation des microorganismes exigeants.

V RESUME ET EXPLICATION

Les qualités nutritionnelles de la **Trypticase** Soy Agar en ont fait un milieu populaire, qu'elle soit utilisée non complémentée ou comme base pour les milieux contenant du sang. Additionnée de 10 % de sang de mouton, elle est utilisée pour la récupération et la culture des espèces microbiennes exigeantes et pour la détermination des réactions hémolytiques, qui sont des caractéristiques de différenciation importantes pour les bactéries, en particulier les streptocoques.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

L'association de la caséine et des peptones de soja dans la **Trypticase** Soy Agar rend ce milieu hautement nutritif en fournissant une source d'azote organique, notamment par l'intermédiaire des acides aminés et des peptides à longue chaîne. Le chlorure de sodium assure l'équilibre osmotique du milieu.

Le sang de mouton défibriné est le type de sang le plus largement utilisé pour enrichir les milieux à base de gélose.[1] Les réactions hémolytiques des streptocoques sont appropriées et la croissance de *Haemophilus hemolyticus*, organisme non pathogène dont les colonies hémolytiques sont impossibles à distinguer de celles des streptocoques bêta-hémolytiques, est inhibée.

VII REACTIFS

Blood Agar Slants

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	14,5	g
Digestion papaïque de semoule de soja	5,0	g
Chlorure de sodium	5,0	g
Gélose	14,0	g
Facteurs de croissance	1,5	g
Sang de mouton (défibriné)	10	%

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

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.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après utilisation, 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. Les milieux en tube conservés conformément aux instructions jusqu'au moment de leur utilisation peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption indiquée et incubés pendant les durées recommandées. Laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante avant de l'ensemencer.

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

Les échantillons adaptés à la mise en culture peuvent être manipulés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.[2,3] Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

Blood Agar Slants

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.

Strier la surface inclinée de la gélose avec une culture pure. Incuber les tubes à une température de 35 ± 2 °C, dans une atmosphère aérobie avec ou sans apport complémentaire de dioxyde de carbone.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Chaque lot de milieu a été testé à l'aide des organismes de contrôle de qualité adaptés et ces tests sont conformes aux spécifications du produit, ainsi qu'aux normes CLSI, lorsqu'elles sont applicables. Comme toujours, les tests de CQ doivent être réalisés conformément aux réglementations locales, régionales, nationales ou internationales, aux exigences d'accréditation et/ou aux protocoles de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement.

X RESULTATS

La croissance microbienne obtenue après un délai d'incubation suffisant peut servir d'inoculum pour réaliser des études de croissance ou biochimiques. Les cultures inclinées peuvent également servir à constituer une souchothèque.

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Pour procéder à l'identification, les organismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.[2-4]

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Tous les lots de Blood Agar Slants sont soumis à des tests en usine permettant d'évaluer les caractéristiques de leurs performances. A l'aide d'une anse calibrée de 0,01 mL, des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés avec des cultures de **Trypticase** Soy Broth diluées au 1/10 d'*Escherichia coli* (ATCC 25922), de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), de *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 6305) et de *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615). Les cultures ensemencées sont incubées, avec les bouchons desserrés, en atmosphère aérobie, à une température de 35 ± 2° C complémentée au dioxyde de carbone. Les tubes sont examinés après 18 à 24 h d'incubation afin de contrôler la croissance et l'hémolyse. La croissance de tous les organismes est moyenne à forte. *S. pneumoniae* présente une alpha-hémolyse, tandis que *S. aureus* et *S. pyogenes* produisent une bêta-hémolyse.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
220830	**BD BBL** Blood Agar Slants, boîte de 10 tubes de taille K
220831	**BD BBL** Blood Agar Slants, boîte de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES :

1. Vera, H.D., and D.A. Power. 1980. Culture media, p. 969. *In* E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Yolken (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

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

EC REP 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