



BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitalX)



L007446 • Rev. 10 • Avril 2015

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

La Chocolate II Agar est un milieu enrichi servant à la culture de *Neisseria* spp. et *Haemophilus* spp.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. A l'aide d'un ensemenceur à anse calibrée de 0,01 mL, ensemencer la gélose inclinée avec des dilutions au 1/10 de cultures en bouillon de soja **Trypticase** Soy Broth âgées de 18 à 24 h.
 - b. Incuber les tubes, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C, en atmosphère aérobie enrichie en dioxyde de carbone.
2. Examiner les tubes après 18 à 24 h et 48 h pour déceler une éventuelle croissance.
3. Résultats attendus

Souches de contrôle (souches ATCC)

**Neisseria gonorrhoeae* (43069)..... Croissance
**Haemophilus influenzae* (10211)..... Croissance
Neisseria meningitidis (13090)..... Croissance
Streptococcus pneumoniae (6305) Croissance

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

REMARQUE: Doivent être contrôlées par l'utilisateur, conformément à la norme CLSI M22-A3.

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 Chocolate II Agar slant (gélose inclinée au chocolat II) est un milieu amélioré servant à la culture qualitative des microorganismes exigeants, notamment *Neisseria* spp. et *Haemophilus* spp., à partir de différents échantillons cliniques.

V RESUME ET EXPLICATION

Carpenter et Morton ont décrit un milieu amélioré permettant d'isoler le gonococcus en 24 h.¹ L'efficacité de ce milieu à base de gélose GC complétée d'hémoglobine et d'extrait de levure a été démontrée dans une étude portant sur douze milieux alors utilisés pour isoler ce microorganisme.² **BBL** a amélioré le milieu en remplaçant l'extrait de levure par de l'**IsoVitalX** Enrichment, un supplément chimiquement défini, conçu spécialement pour faciliter la croissance des gonocoques, bien qu'il permette aussi de cultiver d'autres microorganismes comme *Haemophilus*.³⁻⁵ Grâce à la sélection et au test préalable des matières premières, le milieu Chocolate II Agar préparé en tube favorise la croissance des gonocoques et d'*Haemophilus* spp.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

La Chocolate II Agar contient une base de gélose GC II améliorée, d'hémoglobine bovine et de supplément **IsoVitalX**. La base GC contient des nutriments azotés sous la forme de caséine et de peptones de viande, un tampon phosphate pour maintenir le pH et de la fécule de maïs, qui neutralise les acides gras toxiques pouvant être présents dans la gélose. L'hémoglobine apporte le facteur X (hémine) nécessaire à *Haemophilus* spp. L'**IsoVitalX** Enrichment est un supplément

chimiquement défini, qui apporte le facteur V (nicotinamide-adénine-dinucléotide ou NAD) nécessaire à *Haemophilus* spp., ainsi que les vitamines, les acides aminés, les co-enzymes, le dextrose, l'ion ferrique et d'autres facteurs qui favorisent la croissance des *Neisseria* pathogènes.

VII REACTIFS

Chocolate II Agar (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX Enrichment)

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	7,5	g
Bouillon peptoné sélectionné	7,5	g
Fécule de maïs	1,0	g
Phosphate bipotassique	4,0	g
Phosphate monopotassique	1,0	g
Chlorure de sodium	5,0	g
Gélose	12,0	g
Hémoglobine	10,0	g
Enrichissement IsoVitaleX	10,0	mL

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

IsoVitaleX Enrichment

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Vitamine B ₁₂	0,01	g
L-glutamine	10,0	g
Adénine	1,0	g
Chlorhydrate de guanine	0,03	g
Acide <i>p</i> -aminobenzoïque	0,013	g
Nicotinamide-adénine-dinucléotide	0,25	g
Pyrophosphate de thiamine	0,1	g
Nitrate ferrique	0,02	g
Chlorhydrate de thiamine	0,003	g
Chlorhydrate de L-cystéine	25,9	g
L-cystine	1,1	g
Dextrose	100,0	g

*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.

Respecter les techniques d'asepsie 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. 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. 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 culture peuvent être préparés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{6,7} Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX METHODE

Matériaux fournis

Chocolate II 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.

1. Les Chocolate II Agar slants servent principalement à la culture et au maintien des cultures pures. Les géloses inclinées doivent êtreensemencées avec une pleine anse de culture bactérienne.
2. Incuber la culture dès que possible en atmosphère aérobie enrichie en dioxyde de carbone.
3. Incuber à 35 ± 2 °C et examiner les cultures après une nuit d'incubation, puis de nouveau après 48 h environ.

REMARQUE: Les repiquage servant à l'identification de *N. gonorrhoeae* doivent être effectués dans les 18 à 24 h.

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.

X RESULTATS

Les colonies isolées sur Chocolate II Agar présentent typiquement la morphologie suivante :

<i>Haemophilus influenzae</i>	Petite taille (1 mm), humide, nacré, avec une odeur « de souris » caractéristique
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Petite taille, gris-blanc à incolore, aspect muqueux
<i>Neisseria meningitidis</i>	Taille moyenne à grande, gris-bleu, aspect muqueux
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Petite taille, brillante, aplatie, milieu de couleur verte

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

La Chocolate II Agar est un milieu enrichi sur lequel des bactéries pathogènes sont susceptibles d'être supplantées par des bactéries contaminantes ou non pathogènes.

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.⁶⁻⁸

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Les caractéristiques de performances de tous les lots de Chocolate II Agar slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX) sont testées en usine. Des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés avec 0,01 mL de dilutions au 1/10 de cultures de *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC 43069), *Neisseria meningitidis* (ATCC 13090) et *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211) en Trypticase Soy Broth âgées de 24 h. Les tubes sont incubés, bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C, en atmosphère aérobie, enrichie en dioxyde de carbone. Après 18 à 24 h d'incubation, on observe une croissance modérée à importante sur les géloses inclinées, pour l'ensemble des microorganismes testés.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
295872	BD BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX), coffret de 10 tubes de taille K
299452	BD BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX), carton de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES

1. Carpenter, C.M., and H.E. Morton. 1947. An improved medium for isolation of the gonococcus in 24 hours. Proc. N.Y. State Assoc. Public Health Labs. 27:58-60.
2. Carpenter, C.M., M.A. Bucca, T.C. Buck, E.P. Casman, C.W. Christensen, E. Crowe, R. Drew, J. Hill, C.E. Lankford, H.E. Morton, L.R. Peizer, C.I. Shaw, and J.D. Thayer. 1949. Evaluation of twelve media for the isolation of the gonococcus. Am. J. Syphil. Gonorrh. Venereal Diseases 33:164-176.
3. Power, D.A. (ed.), and P.J. McCuen. 1988. Manual of BBL products and laboratory procedures, 6th ed. Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD.
4. Martin, J.E., T.E. Billings, J.F. Hackney, and J.D. Thayer. 1967. Primary isolation of *N. gonorrhoeae* with a new commercial medium. Public Health Rep. 82:361-363.
5. Vastine, D.W., C.R. Dawson, I. Hoshiwara, C. Yonega, T. Daghfous, and M. Messadi. 1974. Comparison of media for the isolation of Haemophilus species from cases of seasonal conjunctivitis associated with severe endemic trachoma. Appl. Microbiol. 28:688-690.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. 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



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