



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

L'**Enterococcosel** Broth est un milieu sélectif servant à la culture et la différenciation des entérocoques.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Pour *Escherichia coli*, utiliser une culture inclinée en gélose de soja **Trypticase** Soy Agar âgée de 24 heures et de l'eau purifiée stérile pour préparer une suspension de turbidité équivalente à celle d'un standard McFarland 0,5. Ensemencer les tubes à l'aide d'un ensemenceur à anse calibrée de 0,01 mL. Pour les autres microorganismes, ensemencer chaque tube avec un échantillon de culture inclinée en **Trypticase** Soy Agar, âgée de 24 à 48 heures, prélevé avec un ensemenceur à anse calibrée de 0,01 mL.
 - b. Incuber les tubes avec les bouchons desserrés à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie.
 - c. Inclure des tubes de bouillon de soja **Trypticase** Soy Broth comme contrôles pour les souches *Streptococcus pyogenes* et *Escherichia*.
2. Examiner les tubes après 2, 4, puis 18 à 24 heures, pour déceler une réaction et une croissance éventuelles et établir leur sélectivité.
3. Résultats attendus

<i>Enterococcus faecalis</i>	Croissance, avec noircissement du milieu en 2 heures.
*ATCC 29212	
ATCC 10741	
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	Inhibition (partielle). Le milieu ne noircit pas en cas de croissance.
ATCC 19615	
* <i>Escherichia coli</i>	Inhibition (partielle). Le milieu ne noircit pas en cas de croissance.
ATCC 25922	

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

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes comme indiqué à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter les tubes représentatifs pour s'assurer qu'ils ne présentent aucun défaut physique incompatible avec leur usage.
3. Incuber les tubes représentatifs non ensemencés entre 20 et 25 °C, et entre 30 et 35 °C, et examiner les tubes après 7 jours d'incubation pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

L'**Enterococcosel** Broth (bouillon **Enterococcosel**) est recommandé pour différencier les entérocoques.

V RESUME ET EXPLICATION

La formulation de ce milieu sélectif des entérocoques est identique à celle de la gélose **Enterococcosel** Agar, hormis qu'il ne contient pas de gélose. Les colonies suspectées de représenter une croissance d'*Enterococcus faecalis* peuvent être émulsifiées dans 1 à 2 mL de bouillon et incubées à 35 °C. L'association de l'esculine et d'une concentration relativement faible de bile en présence d'azide de sodium permet la sélection des entérocoques et leur différenciation par l'hydrolyse de l'esculine (entraînant le noircissement du milieu) en 2 heures.¹

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Les entérocoques hydrolysent l'esculine en esculetine, qui réagit avec le citrate d'ammonium ferrique pour former un complexe marron foncé ou noir.² La bile de bœuf inhibe la croissance des bactéries à Gram positif et des autres entérocoques. L'azide de sodium inhibe la croissance des microorganismes à Gram négatif.

VII REACTIFS

Enterococcosel Broth

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	17,0 g
Digestion peptique de tissu animal	3,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Bile de bœuf	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Citrate de sodium	1,0 g
Esculine	1,0 g
Citrate d'ammonium ferrique	0,5 g
Azide de sodium	0,25 g

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

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Les milieux contiennent de l'azide de sodium, qui peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, faire couler un volume d'eau important pour éviter l'accumulation d'azides.

Ouvrir les tubes bien bouchés avec précaution pour éviter de se blesser en cas de bris du tube.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après usage, les tubes préparés, les contenants des échantillons et tout autre matériel contaminé doivent être stérilisés à l'autoclave avant d'être éliminés.

Instructions pour la conservation

Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité entre 2 et 25 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Conservé comme indiqué sur l'étiquette jusqu'au moment de l'utilisation, le milieu en tube peut être ensemencé jusqu'à la date de péremption et incubé pendant les durées d'incubation recommandées. Maintenir à l'abri de la lumière.

Détérioration du produit

Ne pas utiliser de tubes présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessèchement ou autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Plusieurs techniques sont utilisées pour manipuler les échantillons pouvant être mis en culture. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{3,4} Prélever les échantillons avant l'administration d'antibiotiques. Veiller à ce que les échantillons soient acheminés rapidement jusqu'au laboratoire.

IX METHODE

Matériaux fournis

Enterococcosel Broth

Matériaux requis mais non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test

Manipuler en conditions aseptiques.

Les colonies prélevées sur une boîte d'isolement primaire et suspectées d'être des entérocoques peuvent être émulsifiées dans 2 mL d'Enterococcosel Broth et incubées à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir la rubrique « Procédures de contrôle de qualité ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, 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

En présence d'entérocoques, le milieu noircit en 2 heures s'il a été ensemencé avec un inoculum important. La croissance des autres microorganismes est inhibée ou le milieu ne noircit pas. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.⁵

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Utiliser une culture pure de microorganismes pour procéder à une identification. 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.^{2,4,6}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Les caractéristiques de performance de chaque lot de **Enterococcosel Broth** sont établies en usine. Des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés avec 0,01 mL de cultures d'*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *E. faecalis* (ATCC 10741) et *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615) en **Trypticase Soy Broth** diluées au 1/10 et 0,01 mL d'une culture d'*Escherichia coli* (ATCC 25922) en **Trypticase Soy Agar** diluée pour obtenir une turbidité équivalente à celle d'un standard McFarland 0,5. Les tubes ensemencés sont incubés avec les bouchons desserrés à 35 ± 2 °C. Les tubes sont examinés au bout de 2 à 4 heures, puis de 18 à 24 heures pour déceler une croissance éventuelle et la présence d'une réaction. En 2 heures, les entérocoques provoquent le noircissement du milieu indiquant l'hydrolyse de l'esculine en esculetine ; le milieu ne noircit pas en présence de *S. pyogenes* ou *E. coli*. La croissance d'*E. faecalis* est modérée à forte dans les 24 heures ; la croissance de *S. pyogenes* et *E. coli* est partiellement à complètement inhibée.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221383	BD BBL Enterococcosel Broth, carton de 10 tubes de taille K

XIV REFERENCES

1. Isenberg, H.D., D. Goldberg, and J. Sampson. 1970. Laboratory studies with a selective enterococcus medium. Appl. Microbiol. 20:433-436.
2. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore.
3. 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.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
5. Facklam, R.R., D.F. Sahm, and L.M. Teixeira. 1999. Enterococcus, p. 297-305. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. 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