



BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine BBL Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine



L007470 • Rev. 10 • Janvier 2015

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Le bouillon de base Moeller Decarboxylase Broth, lorsqu'il est complétement avec de la lysine ou de l'ornithine, facilite la différenciation des bacilles entériques au moyen de réactions de décarboxylation.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Utiliser des anses calibrées de 0,01 mL pour ensemencer légèrement les tubes de bouillon avec des croissances provenant de cultures de gélose inclinée de **Trypticase** Soy Agar âgées de 18 à 24 h. Incorporer des tubes de Moeller Decarboxylase Broth Base non additionnés d'acide aminé qui serviront de tubes de contrôle de croissance pour l'ensemble des organismes.
 - b. Recouvrir la totalité des tubes de 2,0 mL d'huile minérale stérile.
 - c. Incuber les tubes, bouchons resserrés, à 35 ± 2 °C.
2. Au bout de 24, 48, 72 et 96 h, examiner les tubes afin de contrôler les réactions.
3. Résultats attendus

	Lysine	Ornithine
* <i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> ATCC 33495	+	-
* <i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	-	+

Remarque : + = réaction positive (alcaline, pourpre ou rouge)
- = réaction négative (acide, jaune)

Le milieu basal est négatif avec les deux organismes.

*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. De légères variations de couleurs peuvent être observées au sein d'un même lot. Celles-ci n'affectent aucunement la performance du produit.
3. Déterminer le pH par potentiométrie à température ambiante afin de respecter la spécification de $6,0 \pm 0,2$.
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 Moeller Decarboxylase (décarboxylase de Moeller) sont utilisés pour la différenciation biochimique des bacilles entériques Gram négatifs sur la base de la production de lysine décarboxylase et d'ornithine décarboxylase.

V RESUME ET EXPLICATION

En 1955, Moeller a introduit les milieux de culture décarboxylases pour détecter la production de lysine et d'ornithine décarboxylases.¹ Ces milieux sont complémentaires des tests biochimiques utilisés pour la spéciation et l'identification des *Enterobacteriaceae* et des autres bacilles Gram négatifs.²⁻⁴ La production d'ornithine décarboxylase joue un rôle particulièrement important dans la différenciation des espèces *Klebsiella* et *Enterobacter*. Les espèces *Klebsiella* ne sont pas motiles et, à l'exception de *K. ornithinolytica*, ne produisent pas d'ornithine décarboxylase, tandis que la

plupart des espèces d'*Enterobacter* sont motiles et, à l'exception de *E. agglomerans*, produisent généralement cette enzyme.⁴

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Le milieu basal Moeller Decarboxylase est composé de peptone et d'extrait de bœuf, qui fournissent les substances nutritives azotées nécessaires au développement des bactéries. Le pyridoxal est une enzyme constituant un cofacteur de l'acide aminé décarboxylase. Le dextrose est un glucide fermentescible. Le pourpre de bromocrésol et le rouge de crésol sont des indicateurs de pH. Les acides aminés lysine et ornithine sont incorporés au milieu basal afin de révéler la production de l'enzyme spécifique pour ces substrats.

Lorsque le milieu est ensemencé avec une bactérie capable de fermenter le dextrose, les acides produits baissent le pH du milieu et font virer la couleur de l'indicateur du pourpre au jaune. D'autre part, l'acidité stimule l'activité décarboxylase. Si le microorganisme produit l'enzyme appropriée, l'acide aminé contenu dans le milieu est dégradé et une amine correspondante est produite. La décarboxylation de la lysine produit de la cadavérine, tandis que la décarboxylation de l'ornithine produit de la putrescine. La production de ces amines élève le pH du milieu : la couleur de l'indicateur de pH passe du jaune au pourpre ou au violet. Si le microorganisme ne produit pas l'enzyme appropriée, le milieu reste acide (jaune). Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.⁵

Chaque isolat à tester doit aussi être ensemencé à l'intérieur d'un tube contenant le milieu basal et qui ne contient pas l'acide aminé. Si ce tube devient alcalin, le test n'est pas valable.

Pour obtenir les réactions appropriées, les tubes ensemencés ne doivent pas être en contact avec l'air et doivent en être protégés par une couche d'huile minérale stérile. Toute exposition à l'air risque de causer, sur la surface du milieu, une alcalinisation susceptible de faire paraître comme étant positif à la décarboxylase un microorganisme négatif à celle-ci.

VII REACTIFS

Base Moeller Decarboxylase Broth

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion peptique de tissu animal	5,0	g
Extrait de bœuf	5,0	g
Pourpre de bromocrésol	0,01	g
Rouge de crésol	0,005	g
Dextrose	0,5	g
Pyridoxal	0,005	g

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

Le Moeller Decarboxylase Broth with Lysine or Ornithine est constitué de Moeller Decarboxylase Broth Base additionné de 10,0 g/L de lysine ou d'ornithine.

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

Des 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.^{3,6} Prélever les échantillons avant l'administration des agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

Moeller Decarboxylase Broth with Lysine ou
Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine

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.

Repiquer l'isolat à tester sur un milieu approprié en procédant par striation afin d'obtenir des colonies isolées, puis incubé à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 h.

Pour ensemercer le bouillon, transférer à l'aide d'une aiguille à ensemencement ou d'une anse d'inoculation une ou deux colonies prélevées à la surface d'une culture fraîche, puis mélanger afin de répartir la culture dans tout le milieu. Couvrir le milieu de chaque tube d'1 mL d'huile minérale stérile.

Incuber les cultures, avec les bouchons resserrés, à 35 ± 2 °C. Contrôler la croissance et les réactions de décarboxylation après des durées d'incubation de 18 à 24, 48, 72 et 96 h avant de conclure à la négativité des résultats. Dans un premier temps, le milieu devient jaune (si le dextrose est fermenté), puis il vire progressivement au pourpre, si la réaction de décarboxylation se produit et augmente la valeur du pH.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « 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.

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 devrait arriver sous la surface du bouillon.

X RESULTATS

Comparer la couleur des milieux contenant les aminoacides à celle des tubes de contrôle comportant les milieux de base sans aminoacide et ensemencés avec le même isolat. Si les tubes de contrôle ensemencés indiquent une réaction alcaline, le test n'est pas valable : soit il n'a pas été exécuté correctement, soit les microorganismes à tester peuvent suffisamment dégrader la peptone pour produire une réaction alcaline en l'absence d'un aminoacide spécifique.

Si la réaction est positive (alcaline), le milieu devient pourpre à violet. Une couleur jaune indique un test négatif : l'organisme ne produit pas l'enzyme appropriée.

Pour plus d'informations concernant l'interprétation des résultats, consulter les publications citées en référence.^{3,6}

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. Pour plus d'informations, et pour connaître les procédures recommandées, consulter les publications citées en référence.^{3,4,6,7}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Dans une étude de Yabuuchi, Yamanaka et Ohyama visant à développer une nouvelle méthode d'identification des non-fermentants associée à l'utilisation du système **Miniték**, les milieux Moeller Decarboxylase ont été utilisés comme contrôles. Six cent vingt-cinq (625) souches de non-fermentants ont été testées. Le pourcentage de concordance entre les résultats obtenus avec le milieu Moeller Decarboxylase with Lysine et le système **Miniték** était de 95,4 %. La concordance entre les résultats obtenus avec le milieu Moeller Decarboxylase with Ornithine et le système **Miniték** était de 90,9 %.⁸

Au cours d'une autre étude, Westbrook et al. ont utilisé le milieu Moeller Decarboxylase with Ornithine dans le cadre d'un programme d'identification visant à déterminer l'incidence de *Klebsiella planticola* et *K. oxytoca* chez 352 isolats mères et 84 échantillons cliniques frais de l'espèce *Klebsiella*.⁹

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221661	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine, boîte de 10 tubes de taille K
221662	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine, carton de 100 tubes de taille K
221663	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine, boîte de 10 tubes de taille K
221664	BD BBL Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine, carton de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES

1. Moeller, V. 1955. Simplified tests for some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.* 36:158-172.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification, p. 442-458. 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.
5. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
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. 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.
8. Yabuuchi, E., K. Yamanaka, and A. Ohyama. 1981. Evaluation of 36 Miniték tests and a new approach for identification of nonfermenters. *J. Clin. Microbiol.* 13:572-587.
9. Westbrook, G.L., C.M. O'Hara, S.B. Roman, and J.M. Miller. 2000. Incidence and identification of *Klebsiella planticola* in clinical isolates with emphasis on newborns. *J. Clin. Microbiol.* 38:1495-1497.

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