BBL Phenol Red Broth Base, 8 mL
BBL Phenol Red Broth with Dextrose and Durham Tube
BBL Phenol Red Broth with Xylose and Durham Tube

L007486 • Rév. 11 • Janvier 2015

PROCEDURES DE CONTROLE QUALITE

I INTRODUCTION

La Phenol Red Broth Base, complémentée avec un glucide adéquat, est utilisée pour déterminer les activités de fermentation des microorganismes.

II PROCEDURE DU TEST DE FONCTIONNEMENT

1. Inoculer des échantillons représentatifs avec les cultures énumérées ci-dessous.
   a. A l'aide d'une anse calibrée à 0,01 mL, inoculer les tubes présentant une croissance d'une gélose de **Trypticase** Soy Agar âgée de 18 à 24 h additionnée de 5 % de cultures de sang de mouton en boîte Pétri.
   b. Incuber les tubes, capuchons desserrés, à 35 °C (± 2 °C), en atmosphère aérobie.
2. Examiner les tubes après 18 à 24 h et 42 à 48 h pour la présence d'une croissance bactérienne et de réactions. La production de gaz se traduit par la présence de gaz dans le tube Durham renversé, avec une effervescence se produisant lorsque le tube est légèrement agité.
3. Résultats attendus : Voir la figure 1.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes tel que décrit sous la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Examiner visuellement les tubes représentatifs pour s'assurer que tout dommage existant n'affectera pas l'utilisation.
3. Déterminer le pH potentiométriquement à température ambiante pour vérifier que la spécification de 7,4 ± 0,2 est respectée.
4. Incuber les tubes représentatifs non inoculés à une température comprise entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C et les examiner après 7 jours pour la présence de contamination microbienne.

Figure 1 : Résultats attendus	Phenol Red Broth Base	Dextrose	Xylose
Escherichia coli ATCC 25922	---	Acide, Gaz	Acide, Gaz
Klebsiella pneumoniae ATCC 33495*	Alcalin	---	---
Morganella morganii ATCC 8019	---	---	Alcalin
Proteus vulgaris ATCC 8427	Alcalin	---	---
Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145	---	Alcalin	---
Salmonella typhimurium ATCC 14028**	---	---	Acide, Gaz
Salmonella paratyphi ATCC 9150***	---	---	Alcalin
Shigella flexneri ATCC 9199	---	Acide	---
Streptococcus pneumoniae ATCC 6303	Alcalin	---	---

* *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*
** *S. choleraesuis* subsp. *choleraesuis* sérotype Typhimurium
*** *S. choleraesuis* subsp. *choleraesuis* sérotype Paratyphi A

INFORMATIONS RELATIVES AU PRODUIT

IV APPLICATION

La Phenol Red Broth Base (base de culture au rouge de phénol) et le Phenol Red Broth (bouillon au rouge de phénol) additionnées de glucides sont utilisées pour la détermination des réactions de fermentation lors de la différenciation des microorganismes.

V RESUME ET EXPLICATION

La capacité d'un organisme à faire fermenter un glucide spécifique incorporé dans un milieu basal, ayant pour résultat la production d'acide ou d'acide et de gaz, a été utilisée pour caractériser une espèce spécifique ou un groupe de bactéries et faciliter la différenciation entre genres et entre espèces.[1,2]

En 1950, Vera recommanda l'utilisation de la digestion pancréatique de caséine en milieu de fermentation test.[3] Elle constata que la peptone caséine, associée à l'indicateur de pH rouge de phénol, permettait d'obtenir des tests de fermentation très précis.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

La Phenol Red Broth Base est un milieu complet sans glucides ajoutés. Elle est utilisée comme témoin négatif dans les études de fermentation ou comme base pour l'ajout de glucides par l'ajout aseptique de disques **BBL Taxo** Carbohydrate Discs. La digestion pancréantique de caséine fournit des nutriments, et est faible en glucides fermentables.[3] Le phénol rouge, indicateur de pH, est utilisé pour la détection de la production d'acide.

Les bouillons Phenol Red Broths, préparés avec une concentration finale d'un demi-pourcent de glucides, sont une solution commode pour la détermination des réactions de fermentation. La plupart des produits finaux issus de la fermentation de glucides sont des acides organiques qui, en la présence du phénol rouge, font virer la couleur du milieu du rouge au jaune.[1] Si du gaz est produit pendant la réaction de fermentation, il est recueilli dans le tube Durham renversé.

Aucune coloration jaune ne doit apparaître dans le tube de contrôle. Si une telle coloration apparaît, les résultats ne peuvent pas être interprétés correctement car l'acide a été produit sans fermentation.

VII REACTIFS

Phenol Red Broth Base

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	10,0	g
Chlorure de sodium	5,0	g
Rouge de phénol	0,018	g

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

Le Phenol Red Broth additionné de glucides contient les composants ci-dessus avec 5,0 g du glucide spécifié par litre.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Les tubes bien bouchés doivent être ouverts avec prudence pour éviter de les casser et de se blesser.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après usage, les tubes, 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 8 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. N'ouvrir qu'au moment de leur utilisation. 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 des tubes s'ils montrent des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessiccation ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons adéquats pour la culture peuvent être manipulés à l'aide de différentes techniques. Pour de plus amples informations, consulter les textes concernés.[2,4] Les échantillons doivent être prélevés avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à ce que les échantillons soient acheminés rapidement jusqu'au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériel fourni

Phenol Red Broth Base, 8mL ou
Phenol Red Broth with Dextrose and Durham Tube ou
Phenol Red Broth with Xylose and Durham Tube.

Matériaux requis mais non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs, organismes de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis pour ce test.

Mode opératoire du test

Observer des techniques aseptiques.
Si les **Taxo** Carbohydrate Discs sont utilisés avec des tubes de Phenol Red Broth Base, ajouter de manière aseptique le disque adéquat aux tubes avant l'inoculation.

A l'aide d'un inoculum lourd, inoculer les tubes de milieux présentant une croissance bactérienne d'une culture pure de 18 à 24 h au moyen d'une anse d'inoculation. Incuber les tubes avec les capuchons desserrés à 35 °C (± 2 °C) pendant 18 à 48 h en atmosphère aérobie ou anaérobie, en fonction de l'organisme en cours d'évaluation. Une incubation d'une durée allant jusqu'à 30 jours peut être nécessaire pour un résultat négatif.

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.

X RESULTATS

Examiner les tubes non complémentés de temps à autre lors du processus incubation pour la présence d'une croissance. Si elle est complémentée en glucide, observer la base pour la présence d'acide (coloration jaune) et de gaz (comme le montre le déplacement du liquide dans les tubes Durham).

Consulter les documents cités en références pour la présence de réactions typiques produites par diverses espèces bactériennes.[1,2,4-6]

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

L'utilisation du Phenol Red Broth complémenté en glucides facilite la différenciation bactérienne. Des tests biochimiques supplémentaires, de même que des caractéristiques morphologiques et un groupage rhésus, peuvent être nécessaires en vue de l'identification. Consulter les textes appropriés pour obtenir des informations supplémentaires.[2,4-6]

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Phenol Red Broth with Dextrose

Avant leur mise en vente, les caractéristiques de performances de tous les lots de Phenol Red Broth with Dextrose sont testées. Les échantillons représentatifs du lot sont directement inoculés avec des cultures de *Shigella flexneri* ATCC 9199, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 et *Escherichia coli* ATCC 25922, cultivées pendant 18 et 24 h sur **BBL Trypticase** Soy Agar additionnée de 5 % de sang de mouton. Les tubes sont incubés, capuchons desserrés, à une température comprise entre 35 et 37 °C pendant 2 jours en atmosphère aérobie. On observe une production d'acide (changement de coloration du rouge au jaune) et de gaz avec *E. coli*. Avec *S. flexneri*, seule une production d'acide est observée. On n'observe aucune réaction avec *P. aeruginosa.*

Phenol Red Broth with Xylose

Avant leur mise en vente, les caractéristiques de performances de tous les lots de Phenol Red Broth with Xylose sont testées. Des échantillons représentatifs du lot sont directement inoculés avec des cultures de *Morganella morganii* ATCC 8019, *Salmonella choleraesuis* (subsp. *choleraesuis* sérotype Typhimurium*)* ATCC 14028, *S. choleraesuis* (subsp. *choleraesuis* sérotype Paratyphi A*)* ATCC 9150 et *Escherichia coli* ATCC 25922 cultivées pendant 18 et 24 h sur gélose de **BBL Trypticase** Soy Agar additionnée de 5 % de sang de mouton. Les tubes sont incubés, capuchons desserrés, à une température comprise entre 35 et 37 °C pendant 2 jours en atmosphère aérobie. On observe une production d'acide (changement de coloration du rouge au jaune) et de gaz avec *E. coli et S. typhimurium*. On n'observe aucune réaction avec *M. morganii* et *S. paratyphi* A.

Phenol Red Broth Base
Avant leur mise en vente, les caractéristiques de performances de tous les lots de Phenol Red Broth Base sont testées. Des échantillons représentatifs du lot sont directement inoculés avec des cultures de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495, *Proteus vulgaris* ATCC 8427 et *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6303 cultivées pendant 18 à 24 h sur géolose **BBL Trypticase** Soy Agar additionnée de 5 % de sang de mouton. Les tubes sont incubés, capuchons desserrés, à une température comprise entre 35 et 37 °C pendant 2 jours en atmosphère aérobie et le changement de coloration est examiné. Tous les organismes produisent une réaction alcaline (aucun changement de coloration).

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221897	**BD BBL** Phenol Red Broth Base, 8 mL, boîte de 10 tubes de taille K
221677	**BD BBL** Phenol Red Broth with Dextrose and Durham Tube, boîte de 10 tubes de taille K CE
221705	**BD BBL** Phenol Red Broth with Xylose and Durham Tube, boîte de 10 tubes de taille K CE

XIV REFERENCES

1. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
3. Vera, H.D., 1950. Relation of peptones and other culture media ingredients to accuracy of fermentation tests. Am. J. Public Health, *40*:1267-1272.
4. 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.
5. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*. 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., New York.
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

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