



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Le Schaedler Broth with Vitamin K₁ est un milieu enrichi à usages multiples, destiné à la culture des microorganismes aérobies et anaérobies exigeants.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Faire chauffer les tubes dans de l'eau bouillante* et laisser refroidir, bouchons resserrés, avant de les utiliser.
***REMARQUE** : Il n'est pas recommandé d'utiliser un four à micro-ondes.
2. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Pour tous les organismes sauf *Clostridium novyi* A, ensemencer les tubes avec 1,0 mL de dilutions contenant 1000 UFC/mL ou moins. Inoculer les tubes de *C. novyi* A avec 1,0 mL de dilutions constituées de 1×10^5 à 1×10^6 UFC/mL. Pour préparer les dilutions, utiliser des cultures de bouillon de **Trypticase** Soy Broth âgées de 18 à 24 h préparées à partir de souches de *Staphylocoques* et de *Streptocoques*. Utiliser des cultures issues de bouillon de Chopped Meat Carbohydrate Broth PR II âgées de 18 à 24 h pour les autres organismes.
 - b. Incuber les tubes, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C, en atmosphère aérobie (souches de *Staphylocoques* et de *Streptocoques*) et en atmosphère complétée au dioxyde de carbone à l'aide du système anaérobie **BD GasPak EZ** (organismes anaérobies stricts).
3. Au bout de 7 jours, examiner les tubes afin de contrôler la croissance.
4. Résultats attendus

**Peptostreptococcus anaerobius* Croissance
ATCC 27337
Bacteroides fragilis..... Croissance
ATCC 25285
**Clostridium novyi* A..... Croissance
ATCC 7659
**Staphylococcus aureus* .. Croissance
ATCC 25923
Streptococcus pneumoniae Croissance
ATCC 6305

*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

Le Schaedler Broth (bouillon Schaedler) est utilisé pour la culture des microorganismes aérobies et anaérobies exigeants.

V RESUME ET EXPLICATION

Schaedler et al.¹ ont mis au point plusieurs formulations de milieux de cultures favorables à la croissance des microorganismes anaérobies exigeants tels que les lactobacilles, les streptocoques, les clostridia et les *Bactéroïdes*. L'équipe Mata² a modifié le milieu élaboré par Schaedler par un ajustement de la teneur en peptone et une augmentation de la concentration en chlorure de sodium, ainsi que par une réduction de la quantité de dextrose et d'extrait de levure utilisée.³ La formule du bouillon Schaedler Broth est identique à celle de la Schaedler Agar, à part qu'elle ne comporte pas de gélose.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Les teneurs en peptones, en dextrose et en extrait de levure qui caractérisent ce milieu le rendent hautement nutritif. L'hémine fournit le facteur X requis par de nombreux microorganismes exigeants. L'incorporation de vitamine K₁ en guise d'additif autorise la culture de *Prevotella melaninogenica* et stimule la croissance des autres espèces bactériennes ainsi que celle des bactéries Gram positives non sporulées.^{4,5}

Le type d'organisme mis en évidence dans ce milieu liquide dépend de l'environnement d'incubation (environnement aérobique, aérobique complétement au dioxyde de carbone, ou anaérobique).

VII REACTIFS

Schaedler Broth with Vitamin K₁

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	8,2	g
Digestion peptique de tissu animal	2,5	g
Digestion papaïque de semoule de soja	1,0	g
Dextrose	5,8	g
Extrait de levure	5,0	g
Chlorure de sodium	1,7	g
Phosphate bipotassique	0,8	g
L-Cystine	0,4	g
Hémine	0,01	g
Vitamine K ₁	0,01	g
TRIS (hydroxyméthyl) aminométhane	3,0	g

*Ajustée et/ou complétement 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.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »⁶⁻⁹ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. 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.^{10,11} Prélever les échantillons avant l'administration des agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

Schaedler Broth with Vitamin K₁

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.

Ensemencer l'échantillon directement dans le bouillon.

Le milieu liquide pour incubation anaérobie doit être réduit avant l'ensemencement : placer les tubes, avec les bouchons desserrés, dans des conditions anaérobies (utiliser le système anaérobie **BD GasPak EZ** ou équivalent) pendant 18 à 24 h avant de les utiliser. Les milieux liquides peuvent également être réduits juste avant leur utilisation : les faire bouillir* avec les bouchons desserrés, puis les laisser refroidir jusqu'à température ambiante avec les bouchons resserrés avant de procéder à l'ensemencement.

Incuber les tubes et/ou les flacons à 35 ± 2 °C dans une atmosphère adaptée (aérobie, anaérobie ou complémentée au dioxyde de carbone) pendant 7 jours maximum.

***REMARQUE** : Il n'est pas recommandé d'utiliser un four à micro-ondes.

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

La présence d'une certaine turbidité à l'intérieur des tubes (par rapport à un échantillon de contrôle non ensemencé) est un signe de croissance.

En cas de croissance, effectuer une coloration de Gram sur les cultures et repiquer sur des milieux adaptés (par ex : une gélose TSA II et/ou une Chocolate II Agar cultivées en boîtes de Pétri, une LEMB Agar ou une MacConkey II Agar en boîtes de Pétri). Si la présence de bactéries anaérobies strictes est présumée, incuber les repiquages en atmosphère anaérobie (système **BD GasPak EZ**).

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 obtenir des informations détaillées et connaître les procédures recommandées, consulter les publications citées en référence.¹⁰⁻¹²

Les milieux de culture contiennent parfois des organismes morts provenant des éléments composant le milieu, qui peuvent apparaître sous la forme de trainées dans le milieu de culture. Les réactifs de coloration, l'huile d'immersion, les lames de verre et les échantillons utilisés pour l'ensemencement constituent d'autres sources d'organismes morts qui deviennent visibles après une coloration de Gram. S'il existe un doute concernant la coloration de Gram, la culture doit être réincubée pendant une heure ou deux et le test répété avant qu'un compte rendu ne soit donné.

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Stalons et al.¹³ ont découvert que lorsqu'il était incubé en atmosphère anaérobie, le Schaedler Broth constituait, parmi neuf bouillons testés, le milieu le plus favorable à la croissance des bactéries anaérobies strictes.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221541	BD BBL Schaedler Broth with Vitamin K ₁ , boîte de 10 tubes de taille K
221542	BD BBL Schaedler Broth with Vitamin K ₁ , carton de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES

1. Schaedler, R.W., R. Dubos, and R. Costello. 1965. The development of the bacterial flora in gastrointestinal tract of mice. *J. Exp. Med.* 122:59-66.
2. Mata, L.J., C. Carrillo, and E. Villatoro. 1969. Fecal microflora in healthy persons in a preindustrial region. *Appl. Microbiol.* 17:596-602.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. *J. Bacteriol.* 80:164-170.
5. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attelbery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 365-375. In E.H. Lennette, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.

7. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17:53-80.
8. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
9. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). *Official Journal L262*, 17/10/2000, p. 0021-0045.
10. 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.
11. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
12. 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.
13. Stalons, D.R., C. Thornsberry, and V.R. Dowell, Jr. 1974. Effect of culture medium and carbon dioxide concentration on growth of anaerobic bacteria commonly encountered in clinical specimens. *Appl. Microbiol.* 27:1098-1164.

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