



BBL GN Broth



L007455 • Rev. 13 • Octobre 2015

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE (Facultatif)

I INTRODUCTION

Le bouillon GN Broth (GN = Gram négatif) est un milieu d'enrichissement sélectif pour la culture d'organismes entériques Gram négatifs.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. A l'aide d'une anse calibrée de 0,01 mL stérile jetable, ensemencer les tubes avec des cultures de bouillon **Trypticase** Soy Broth diluées au 1/10 et incubées pendant 18 à 24 h.
 - b. Incuber les tubes, bouchons desserrés, en atmosphère aérobie, à une température de 35 ± 2 °C.
2. Après 18 à 24 h d'incubation, repiquer tous les tubes sur une gélose MacConkey II en boîtes de Pétri. Incuber les boîtes en atmosphère aérobie à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 h et contrôler la croissance.
3. Résultats attendus
Organismes de contrôle du CLSI (souches ATCC)

* <i>Salmonella enterica</i>	Gélose MacConkey II
sous-espèce <i>enterica</i>	Croissance en repiquage après 24 h.
sérotype Typhimurium (14028)	
* <i>Shigella sonnei</i> (9290)	Gélose MacConkey II
	Croissance en repiquage après 24 h.
* <i>Escherichia coli</i> (25922)	Gélose MacConkey II
	Croissance en repiquage après 24 h.

*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 GN Broth (bouillon Gram négatif) est utilisé pour l'enrichissement sélectif des *Salmonella* et des *Shigella*.

V RESUME ET EXPLICATION

Le GN Broth a été développé par Hajna comme milieu d'enrichissement pour la récupération de *Salmonella* et de *Shigella* à partir d'échantillons cliniques.^{1,2} Grâce à ce bouillon, Croft et Miller ont réussi à isoler plus de souches de *Shigella* qu'en utilisant le repiquage direct.³ Taylor et Schelhart ont confirmé que le GN Broth améliorait l'isolation des agents entéro-pathogènes, améliorant de 53 % les résultats pour la *Shigella* comparé au repiquage direct. Cette amélioration est de l'ordre de 36 % pour la *Salmonella*.⁴

Le GN Broth est actuellement recommandé pour l'examen microbiologique de produits alimentaires.⁵

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Les digestions enzymatiques de caséine et de tissus animaux produisent des aminoacides et autres substances azotées permettant la croissance bactérienne. Le mannitol et le dextrose sont des sources d'énergie. La concentration en mannitol est supérieure à la concentration en dextrose, ce qui permet d'améliorer la croissance d'espèces fermentant le mannitol comme la *Salmonella* et la

Shigella et de limiter la croissance de *Proteus* et autres bactéries fermentant le dextrose. Des tampons de phosphate sont incorporés au milieu pour maintenir le pH. Le chlorure de sodium assure l'équilibre osmotique. Du citrate de sodium et du désoxycholate de sodium sont ajoutés de façon à inhiber les bactéries Gram positives et certaines bactéries Gram négatives.

VII REACTIFS

GN Broth

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	10,0	g
Digestion peptique de tissu animal	10,0	g
Dextrose	1,0	g
D-Mannitol	2,0	g
Citrate de sodium	5,0	g
Désoxycholate de sodium	0,5	g
Phosphate dipotassique	4,0	g
Phosphate monopotassique	1,5	g
Chlorure de sodium	5,0	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.

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

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.^{10,11} Prélever les échantillons avant l'administration des agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

GN 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

Respecter les techniques d'asepsie.

Ensemencer le bouillon dès que possible une fois les spécimens arrivés au laboratoire. Les écouvillonnages peuvent être directement insérés dans le bouillon. Pour les échantillons fécaux, utiliser 1 g de fèces ou 1 mL de selles liquides par tube. Pour plus d'informations sur le traitement et l'ensemencement d'autres spécimens cliniques ou échantillons de produits alimentaires, consulter les publications citées en référence.^{5,10-12}

Incuber à 35 °C les tubes avec les bouchons desserrés et repiquer en milieux sélectif et différentiel après 6 à 8 h d'incubation, puis à nouveau après 18 à 24 h d'incubation.¹³

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Chaque lot de milieu a été testé à l'aide des organismes de contrôle de qualité adaptés et ces tests sont conformes aux spécifications du produit, ainsi qu'aux normes CLSI, lorsqu'elles sont applicables. Comme toujours, les tests de CQ doivent être réalisés conformément aux réglementations locales, régionales, nationales ou internationales, aux exigences d'accréditation et/ou aux protocoles de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement.

X RESULTATS

La présence de turbidité à l'intérieur des tubes (par rapport à un échantillon de contrôle non ensemencé) est un signe de croissance dans les bouillons. Repiquer en milieux sélectif et différentiel pour isoler les pathogènes à des fins d'identification.

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Les bouillons d'enrichissement ne doivent pas constituer le seul milieu d'isolement. Ils doivent être utilisés conjointement avec des milieux sur gélose sélectifs et non sélectifs de manière à accroître la probabilité d'isoler des pathogènes, particulièrement lorsque ceux-ci sont susceptibles de n'être présents qu'en petit nombre. Pour plus d'informations, et pour connaître les procédures recommandées, consulter les publications citées en référence.^{5,10-12}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Une étude de Taylor et Schelhart a comparé trois bouillons d'enrichissement (GN, Selenite et Silliker) et trois milieux sur gélose (EMB, SS et XLD). Le but était de déterminer une combinaison de milieux capable d'améliorer la détection de shigellae.¹⁴ Au total, 1 405 échantillons fécaux ont été testés lors de cette étude. Une distribution de 158 isolats de salmonellae et de 49 isolats de shigellae a été observée. Les bouillons d'enrichissement se sont montrés deux fois supérieurs aux milieux en boîtes de Pétri en termes d'isolement des salmonellae et des shigellae. En ce qui concerne la détection de salmonellae, tous les bouillons ont obtenu les mêmes résultats, mais les bouillons de Silliker et GN se sont distingués en détectant deux fois plus d'isolats de shigellae que le bouillon Selenite.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221729	BD BBL GN Broth, 8 mL, boîte de 10 tubes de taille K
221730	BD BBL GN Broth, 8 mL, carton de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES

1. Hajna, A.A. 1955. A new specimen preservative for gram-negative organisms of the intestinal group. Public Health Lab. 13:59-62.
2. Hajna, A.A. 1955. A new enrichment broth medium for gram-negative organisms of the intestinal group. Public Health Lab. 13:83-89.
3. Croft, C.C., and M.J. Miller. 1956. Isolation of *Shigella* from rectal swabs with Hajna "GN" broth. Am. J. Clin. Pathol. 26:411-417.
4. Taylor, W.I., and D. Schelhart. 1967. Isolation of shigellae. IV. Comparison of plating media with stools. Am. J. Clin. Pathol. 48:356-362.
5. Downes, F.P. and K. Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, 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. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
13. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
14. Taylor, W.I. and D. Schelhart. 1968. Isolation of Shigellae. V. Comparison of enrichment broths with stools. Appl. Microbiol. 16:1383-1386.

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