



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE (Facultatif)

I INTRODUCTION

Le Selenite-F Broth est un milieu d'enrichissement utilisé pour l'isolement de la *Salmonella* et de certaines espèces de *Shigella*.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. En utilisant des pipettes jetables stériles de 1,0 mL, ensemencer les tubes avec 1,0 mL de cultures de *Salmonella* Typhimurium et *Shigella sonnei* sur **Trypticase** Soy Broth, âgées de 18 à 24 h et diluées de façon à contenir 10^2 à 10^3 UFC/mL.
 - b. Dans chacun des tubes ainsi ensemencé, ajouter 1,0 mL d'une culture d'*Escherichia coli* sur TBS âgée de 18 à 24 h et diluée de façon à contenir 10^2 – 10^3 UFC/mL. Ajouter un tube de Selenite-F Broth non ensemencé aux phases de repiquage et d'incubation pour qu'il tienne lieu de contrôle de croissance.
 - c. Bien mélanger tous les tubes en les vortexant.
2. Incuber tous les tubes avec des bouchons lâches à 35 ± 2 °C en conditions aérobies pendant 18 à 24 h. Après incubation, vortexer les tubes et strier des boîtes de gélose de MacConkey II avec une anse pleine de chacun des tubes.
3. Incuber les boîtes de gélose de MacConkey II à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 h en atmosphère aérobie. Examiner les boîtes gélose de MacConkey II afin de contrôler la croissance des organismes tolérants au lactose (colonies roses) et celle des organismes intolérants au lactose (colonies incolores).
4. Résultats attendus

Organismes de contrôle du CLSI (souches ATCC)

Récupération sur la gélose de MacConkey II

* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> sérotipe Typhimurium (14028)	Croissance faible à forte de colonies incolores
* <i>Shigella sonnei</i> (9290)	Croissance faible à forte de colonies incolores
* <i>Escherichia coli</i> (25922)	Inhibition partielle à totale (colonies roses)

REMARQUE : Les contrôles de croissance ne montre aucune croissance sur la gélose de MacConkey II.

*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. Déterminer le pH par potentiométrie à température ambiante afin de respecter la spécification de $7,0 \pm 0,2$.
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

Le Selenite-F Broth (bouillon Selenite-F) est utilisé comme milieu d'enrichissement pour l'isolement de la *Salmonella* dans les fèces, l'urine, l'eau, les aliments et d'autres matières dont la qualité sanitaire est importante.

V RESUME ET EXPLICATION

Le Selenite-F Broth a été élaboré par Leifson,¹ qui a démontré que la sélénite inhibait les coliformes et certaines autres espèces microbiennes telles que les streptocoques fécaux présents dans les échantillons de matière fécale, et permettait ainsi de mettre en évidence les espèces de *Salmonella*. Il a découvert que les souches inhibées finissaient par se développer, mais que si des repiquages étaient effectués à partir du bouillon d'enrichissement après 8 à 12 h d'incubation, l'isolement de la *Salmonella* était possible sans que cela n'engendre la prolifération de nombreuses espèces constituant la flore intestinale.

Les milieux d'enrichissement sont communément utilisés pour révéler la présence de pathogènes dans les échantillons fécaux car, en principe, les pathogènes ne représentent qu'un faible pourcentage de la flore intestinale. L'utilisation du Selenite-F Broth et du milieu apparenté, le Selenite Cystine Broth, sont recommandés pour la mise en évidence de la *Salmonella* au moyen de repiquages effectués après 12 à 18 h d'incubation. Pour la détection des *Shigella*, l'utilisation du GN Broth comme milieu d'enrichissement donne des résultats satisfaisants.² L'utilisation du Campylobacter Thioglycollate Medium with 5 Antimicrobics est recommandée pour les échantillons présumés contenir l'espèce *Campylobacter jejuni* lorsque des chiffres faibles sont attendus en raison d'un retard d'arrivée des échantillons au laboratoire, ou lorsque le stade aigu de la maladie est dépassé.³

VI PRINCIPES DE LA METHODE

La peptone de caséine fournit des composés azotés et carbonés indispensables. Le lactose contenu dans le milieu permet de conserver un pH stable. Lorsque la croissance des bactéries réduit la teneur en sélénite, une réaction alcaline se produit, et l'augmentation du pH diminue la toxicité de la sélénite, ce qui engendre une croissance excessive des bactéries exogènes. L'acide produit par la fermentation du lactose permet de conserver une valeur de pH neutre ou légèrement plus faible. Le rôle du phosphate est double : d'une part, il permet de garantir un pH stable et d'autre part, il diminue le niveau de toxicité de la sélénite, augmentant ainsi la capacité du milieu. La sélénite de sodium inhibe de nombreuses espèces de bactéries Gram positives et Gram négatives, notamment les entérocoques et les coliformes.

VII REACTIFS

Selenite-F Broth

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	5,0	g
Lactose	4,0	g
Sélénite de sodium	4,0	g
Phosphate de sodium	10,0	g

*Ajustée et/ou complétée 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 »⁴⁻⁷ 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.^{8,9} Prélever les échantillons avant l'administration des agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

Selenite-F 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.

Pour les fèces et les autres matières solides, mettre en suspension 1 ou 2 g de l'échantillon dans le bouillon (environ 10 à 15 % par volume) et, le cas échéant, émulsifier à l'aide d'une aiguille d'ensemencement.

Incuber les cultures, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C pendant 24 h maximum. Si possible, repiquer après 12 à 18 h d'incubation. Si la durée d'incubation dépasse 24 h, les bactéries coliformes ont tendance à se développer de manière excessive par rapport aux pathogènes.

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.

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

Après la période d'incubation, le nombre des pathogènes que le milieu est censé sélectionner et enrichir doit avoir augmenté. Repiquer sur des milieux sélectifs et différentiels adaptés (par ex : MacConkey Agar, Hektoen Enteric Agar, XLD Agar, XLT4 Agar et **CHROMagar** Salmonella) pour isoler les pathogènes afin de les identifier.

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 sélectifs et non sélectifs cultivés en boîtes de Pétri, de manière à accroître la probabilité d'isoler des pathogènes, particulièrement lorsque ces derniers sont susceptibles d'être peu nombreux. 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.⁸⁻¹⁰

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Dans une étude menée par Kelly et al.,¹¹ 8 717 échantillons fécaux ont été transmis au laboratoire afin d'être mis en culture. Les échantillons ont été directement ensemencés sur une XLD Agar et dans un bouillon d'enrichissement à la sélénite. Après 12 à 18 h d'incubation, le Selenite broth était repiqué sur une XLD Agar. La *Salmonella enterica* a été identifiée dans 312 (3,6 %) des échantillons fécaux ; 197 (63 %) provenaient de cas diagnostiqués auparavant et 115 (37 %) de cas nouvellement identifiés. Parmi les 115 nouveaux isolats de *S. enterica*, 68 avaient été récoltés dans la gélose primaire XLD en boîte de Pétri et dans le Selenite broth. Néanmoins, 47 (41 %) s'étaient développés uniquement à la suite de l'enrichissement à la sélénite.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221020	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, boîte de 10 tubes de taille K
221021	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, carton de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES

1. Leifson, E. 1936. New selenite selective enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid *Salmonella* bacilli. Am. J. Hyg. 24:423-432.
2. Taylor, W.I., and B. Harris. 1965. Isolation of Shigellae, II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Pathol. 44:476-479.
3. Nachamkin, I. 1999. *Campylobacter* and *Arcobacter*, p. 716-726. 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.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. 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.
11. Kelly, S., M. Cormican, L. Parke, G. Corbett-Feeney, and J. Flynn. 1999. Cost-effective methods for isolation of *Salmonella enterica* in the clinical laboratory. J. Clin. Microbiol. 37: 3369.

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