



BBL Trypticase Soy Agar



L007516 • Rev. 11 • Septembre 2014

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

La **Trypticase** Soy Agar est un milieu polyvalent permettant de cultiver des microorganismes exigeants ou non exigeants.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Liquéfier le milieu en tube au bain-marie à ébullition. Laisser refroidir jusqu'à 45 à 50 °C, ajouter 1 mL de sang de mouton défibriné stérile à deux tubes (à ensemer avec des souches de *Streptococcus*), puis verser dans des boîtes de Pétri stériles. Bien mélanger pour distribuer également le sang dans le milieu et laisser se solidifier pendant au moins 30 minutes.
2. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. A l'aide d'un ensementeur à anse calibrée de 0,01 mL, ensemer la gélose avec des dilutions au 1/10 de cultures en bouillon de soja **Trypticase** Soy Broth âgées de 18 à 24 h. Ensemencer par striage les boîtes de gélose de façon à obtenir des colonies bien isolées.
 - b. Incuber les boîtes ou les géloses inclinées en tube (avec les bouchons desserrés) à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie. Les boîtes de gélose au sang doivent être incubées en présence de dioxyde de carbone.
3. Examiner les boîtes ou les tubes après 18 à 24 h et 42 à 48 h pour évaluer la croissance bactérienne et la pigmentation des colonies. Examiner les boîtes de gélose au sang pour déceler une hémolyse éventuelle.

4. Résultats attendus

Milieu non complémenté de sang.

* <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Croissance. Colonies de taille moyenne à grande taille, de couleur gris blanc, translucides, légèrement convexes et parfois muqueuses.
---------------------------------------	--

* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Croissance
--------------------------------------	------------

* <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Croissance. Colonies de taille moyenne à grande taille, opaques, circulaires, entièrement pigmentées de couleur jaune crème à doré.
---	---

Milieu complémenté de sang de mouton défibriné stérile (gélose en tube).

* <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Croissance. Colonies entourées d'une zone d'alpha-hémolyse (vert).
---	--

* <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Croissance. Colonies entourées d'une zone de bêta-hémolyse (clair à voilé)
--	--

*Souche de microorganisme recommandée pour le contrôle de qualité 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. S'assurer que la pH mesuré par potentiométrie à température ambiante est conforme à la spécification ($7,3 \pm 0,2$).
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

La **Trypticase** Soy Agar (gélose de soja **Trypticase**) sert à l'isolement et à la culture de microorganismes exigeants ou non exigeants, y compris les bactéries anaérobies ou aérobies, même s'il ne constitue pas le milieu à privilégier pour les anaérobies.

V RESUME ET EXPLICATION

Les qualités nutritionnelles de la **Trypticase Soy Agar** en ont fait un milieu populaire depuis de nombreuses années. Il s'agit du milieu spécifié comme milieu digéré de soja-caséine gélosé dans la pharmacopée des américaine pour la partie concernant l'énumération microbienne aérobie totale des méthodes de test des limites microbiennes.¹

Ce milieu a de nombreuses utilisations, notamment la propagation des cultures mères, l'énumération sur boîte de Pétri, l'isolement des microorganismes à partir d'un grand nombre de types d'échantillons et comme base des milieux au sang.²⁻⁴ Il est inclus dans le compendium des méthodes d'analyse de l'eau, des eaux usées et des produits alimentaires.^{5,6}

VI PRINCIPES DE LA METHODE

L'association de la caséine et des peptones de soja dans la **Trypticase Soy Agar** rend ce milieu hautement nutritif en fournissant une source d'azote organique, notamment par l'intermédiaire des acides aminés et des peptides à longue chaîne. Le chlorure de sodium assure l'équilibre osmotique du milieu.

VII REACTIFS

Trypticase Soy Agar

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	15,0	g
Digestion papaïque de semoule de soja	5,0	g
Chlorure de sodium	5,0	g
Gélose	15,0	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 »⁷⁻¹⁰ 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 25 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Maintenir à l'abri de la lumière. Les tubes de milieu conservés comme indiqué sur l'étiquette 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 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 culture peuvent être manipulés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{3,11} Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX METHODE

Matériaux fournis

Trypticase Soy Agar

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.

Liquéfier le milieu en tube au bain-marie à ébullition. Laisser refroidir jusqu'à 45 à 50 °C, ajouter du sang, le cas échéant, puis verser dans des boîtes de Pétri stériles.

Pour une utilisation courante, strier avec l'échantillon dès que possible après réception au laboratoire. La boîte d'étalement sert principalement à isoler des cultures pures à partir d'échantillons contenant des flores mixtes. Si le prélèvement est mis en culture directement à partir d'un écouvillon, rouler l'écouvillon sur une petite partie de la gélose au niveau du bord de la boîte, puis strier la gélose à partir de cette zoneensemencée. Comme l'isolement primaire de nombreux pathogènes nécessite du dioxyde de carbone, les boîtes peuvent être incubées en atmosphère enrichie de 3 à 10 % de CO₂ environ. Incuber les boîtes à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 h.

Les géloses inclinées en tube de **Trypticase** Soy Agar servent principalement à la culture et au maintien des cultures pures. Elles doivent être ensemencées avec un ensementeur à anse et incubées dans les mêmes conditions que le milieu coulé en boîte.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, 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

Après incubation, la plupart des boîtes présenteront une zone de croissance agglomérée. Comme la méthode de striage est en fait une technique de « dilution », un nombre décroissant de microorganismes est déposé sur la gélose striée. Par conséquent, une ou plusieurs de ces zones doivent présenter les colonies isolées des microorganismes contenus dans l'échantillon. En outre, la croissance de chaque microorganisme peut être évaluée de façon semi-quantitative sur la base de la croissance dans chacune des zones striées.

Les réactions hémolytiques doivent être rapportées pour les microorganismes ensemencés sur le milieu au sang.

La gélose inclinée en tube contenant des cultures pures peut être utilisée pour réaliser des études complémentaires ou comme culture mère, le cas échéant.

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Pour procéder à l'identification, les microorganismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.^{3,11,12}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

La **Trypticase** Soy Agar (TSA) complétée de 5 % de sang de mouton a servi de contrôle lors d'une étude utilisant une culture améliorée en bouillon (Todd Hewitt) et une méthode de dosage immunologique optique pour diagnostiquer une infection à streptocoques β-hémolytiques. 502 échantillons ont été testés. La sensibilité et la spécificité de la TSA complétée de 5 % de sang de mouton étaient de 92,5 % et 99,4 %, respectivement.¹³ Nguyen et al. ont utilisé la **Trypticase** Soy Agar complétée de 5 % de sang de mouton comme milieu de référence pour la détection de *Streptococcus* de groupe B à partir de prélèvements dans les voies génitales inférieures de la femme enceinte.¹⁴ Dans une autre étude, Rossmann et al. sont parvenus à isoler de nouveau *Lautropia mirabilis* sur **Trypticase** Soy Agar complétée de 5 % de sang de mouton à partir de prélèvements dans la cavité buccale chez l'enfant infecté par le virus d'immunodéficience humaine.¹⁵ Sur les 85 enfants évalués dans cette étude, 35 (41,4 %) étaient positifs pour *L. mirabilis*. Isenberg et al. ont utilisé la **Trypticase** Soy Agar complétée de 5 % de sang de mouton comme contrôle pour évaluer l'isolement d'*Enterococcus* sur un milieu sélectif en cours d'étude.¹⁶ 250 souches de streptocoques du groupe D isolées à partir d'échantillons cliniques et 8 souches du *National Communicable Disease Center* d'Atlanta aux Etats-Unis ont été utilisées. Kantor et al. ont propagé des cultures mères à température ambiante sur **Trypticase** Soy

Agar Slants recouvertes d'huile minérale stérile dans le cadre d'une étude d'identification des bactéries à Gram négatif non fermentantes en laboratoire d'analyse médicales.¹⁷

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221082	BD BBL Trypticase Soy Agar Deeps (Pour Tubes), 20 mL, coffret de 10 tubes de taille A
221086	BD BBL Trypticase Soy Agar Slants, coffret de 10 tubes de taille K
221087	BD BBL Trypticase Soy Agar Slants, carton de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES

1. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2006. The U.S. pharmacopeia 29/The national formulary 24-2006. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, 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. Chapin, K.C., and P.R. Murray. 1999. Media, p. 1687-1707. 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. Clesceri, L.S., A.E. Greenberg, and A.D. Eaton (ed.) 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. 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.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
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. Fries, S.M. 1995. Diagnosis of group A streptococcal pharyngitis in a private clinic: comparative evaluation of an optical immunoassay method and culture. J. Ped. vol. 126, number 6.
14. Nguyen, T.M. et al. 1998. Detection of group B streptococcus: comparison of an optical immunoassay with direct plating and broth-enhanced culture methods. J. Matern. Fetal. Med. Jul-Aug; 7(4):172-176.
15. Rossmann, S.N. et al. 1998. Isolation of *Lautropia mirabilis* from oral cavities of human immunodeficiency virus infected children. J. Clin. Microbiol. 36:1756-1760.
16. Isenberg, H.D., D. Goldberg, and J. Sampson. 1970. Laboratory studies with a selective medium. Appl. Microbiol. Sept. 1970, p.433-436.
17. Kantor, L.T., D.K. Spyros, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. Amer. J. Med. Tech. vol. 41, no. 1.

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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.