



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

La Nutrient Agar est un milieu polyvalent servant à la culture d'un grand nombre de microorganismes bactériens.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Liquéfier la Nutrient Agar dans les tubes A au bain-marie à ébullition. Laisser refroidir entre 45 et 50 °C, puis couler en boîtes de Pétri et laisser prendre pendant au moins 30 minutes.
2. Strier les boîtes à l'aide d'un ensemencement à anse calibrée de 0,01 mL pour obtenir des colonies isolées. Pour les géloses inclinées en tube, ensemencer la gélose avec une pleine anse d'inoculum. Utiliser des dilutions au 1/10 de cultures en bouillon de soja **Trypticase Soy Broth**, âgées de 18 à 24 h, des microorganismes répertoriés ci-dessous.
3. Incuber les boîtes ou les tubes en atmosphère aérobie, à 35 ± 2 °C (desserrer les bouchons des tubes).
4. Examiner les boîtes ou les tubes après 18 à 24 h pour évaluer la croissance bactérienne.
5. Résultats attendus
 - Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 Croissance modérée à importante, pigmentation verte
 - **Shigella flexneri* ATCC 12022 Croissance modérée à importante
 - **Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Croissance modérée à importante, colonies de couleur crème à doré

*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. 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 Nutrient Agar (gélose nutritive) sert à la culture des bactéries et à l'énumération des microorganismes dans l'eau, les eaux usées, les selles et d'autres produits.

V RESUME ET EXPLICATION

Au début du XX^{ème} siècle, l'Association de santé publique américaine a publié la formule d'un milieu polyvalent permettant de cultiver un grand nombre de microorganismes non exigeants.¹ Cette formule répondait à une attente d'un milieu standardisé pour l'analyse de l'eau et des eaux usées, des produits laitiers et de différents produits alimentaires. Cette formulation relativement simple est demeurée un standard et, sous le nom de Nutrient Agar, elle est encore spécifiée dans le compendium actuel des méthodes d'analyses microbiologiques de produits très variés.²⁻⁵ En outre, elle s'utilise au laboratoire pour la culture et le maintien des espèces non exigeantes.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

La Nutrient Agar se compose de peptone, d'extrait de bœuf et de gélose. Cette formulation relativement simple fournit les nutriments nécessaires à la réplication d'un grand nombre de microorganismes qui ne sont pas trop exigeants. L'extrait de bœuf contient des substances hydrosolubles (hydrates de carbone, vitamines, composés organiques azotés et sels). Les peptones représentent la principale source d'azote organique, notamment par l'intermédiaire des acides aminés et des peptides à longue chaîne. La gélose est l'agent solidifiant.

VII REACTIFS

Nutrient Agar

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de gélatine.....	5,0	g
Extrait de bœuf	3,0	g
Gélose.....	15,0	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.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. 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. 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. Maintenir à l'abri de la lumière.

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.^{6,7} Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX METHODE

Matériaux fournis

Nutrient Agar

Matériaux requis mais non fournis

Milieus de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test

Respecter les techniques d'asepsie.

Liquéfier la gélose contenue dans les tubes A, laisser refroidir jusqu'à 45 à 50 °C, puis couler en boîtes de Pétri. La laisser se solidifier pendant au moins 30 minutes. 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 zone ensemencée. Incuber les boîtes à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 h et 42 à 48 h, si nécessaire.

La gélose inclinée en tube sert principalement à la culture et au maintien des cultures pures. Elle doit être ensemencée avec un ensemenceur à anse et incubée 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 colonies obtenues dans les tubes ensemencés avec des cultures pures peuvent servir aux tests biochimiques et/ou sérologiques.

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.⁶⁻⁸

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Tous les lots de géloses inclinées et de tubes de Nutrient Agar sont testés en usine afin d'établir leurs caractéristiques de performances. A l'aide d'un ensemencement à anse calibrée de 0,01 mL, des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés par striage avec des cultures en **Trypticase Soy Broth** diluées au 1/10 de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Shigella flexneri* (ATCC 12022) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Les cultures ensemencées sont incubées, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C. Les cultures sont examinées après 18 à 24 h d'incubation pour déceler une éventuelle croissance et l'apparition d'une pigmentation. Toutes les cultures présentent une croissance modérée importante ; les colonies de *P. aeruginosa* montrent une pigmentation verte et les colonies de *S. aureus* une couleur crème à doré.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
220971	BD BBL Nutrient Agar Slants , carton de 100 tubes de taille K
298235	BD BBL Nutrient Agar Slants , carton de 100 tubes de taille D
220968	BD BBL Nutrient Agar Deepes (Pour Tubes) , 20 mL, coffret de 10 tubes de taille A

XIV REFERENCES

1. American Public Health Association. 1917. Standard methods of water analysis, 3rd ed. American Public Health Association, New York.
2. U.S. Food and Drug Administration. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
3. 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.
4. Horwitz, W. (ed.). 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed, vol.1. AOAC International, Gaithersburg, MD.
5. Downes and Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. 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.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. 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



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.