

MODE D'EMPLOI – MILIEUX EN BOITES DE PETRI PRETS A L'EMPLOI PA-254481.04

 ϵ

Rev.: Oct 2014

BD Cepacia Medium • BD OFPBL Agar

APPLICATION

Le **BD Cepacia Medium** (milieu Cepacia) et la **BD OFPBL Agar** (gélose OFPBL) sont des milieux sélectifs différentiels pour l'isolement des *Burkholderia cepacia* spp. à partir d'échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Burkholderia (anciennement Pseudomonas) cepacia est établi comme un agent pathogène nosocomial qui, en général, provoque des infections associées à l'usage d'équipement, de désinfectants et de médicaments contaminés. Les infections comprennent la bactériémie, les infections urinaires et des voies respiratoires, et d'autres. De plus, ce microorganisme est un pathogène important chez les patients atteints de fibrose kystique, également connue sous le nom de mucoviscidose, de thez ceux souffrant de granulomatose septique chronique. La mise en évidence du microorganisme sur les milieux de routine, comme la gélose au sang ou la MacConkey Agar s'avère parfois difficile car d'autres microorganismes, tels que les Staphylococcus ou les Pseudomonas aeruginosa envahissent souvent la culture et en cachent la présence. 1,2,5

La **BD OFPBL** (Oxidation/Fermentation-Polymyxin-Bacitracin-Lactose sert à l'isolement de *B. cepacia*, et est réputée comme étant légèrement moins sélective que le **BD Cepacia Medium**. ^{1,6} La **BD OFPBL Agar** est basée sur un milieu O/F (milieu d'oxydation/de fermentation). L'indicateur de pH bleu de bromothymol vire du bleu au jaune lorsque le lactose est fermenté en produits acides. L'ajout de phosphate permet de stabiliser le pH. La bacitracine et la polymyxine B jouent le rôle d'inhibiteurs des bactéries présentes.

Le **BD Cepacia Medium** sert également à isoler *B. cepacia*. Les peptones et le sulfate d'ammonium fournissent au milieu l'azote nécessaire. Le pyruvate constitue la source de carbone. Le rouge de phénol sert d'indicateur de pH. Lors du métabolisme du pyruvate, les ions sodium s'accumulent, ce qui provoque une augmentation du pH. En conséquence, le rouge de phénol vire du jaune-orange au rose voire au rouge autour des colonies de *B. cepacia*, et présente une coloration rose plus soutenue dans les zones de forte croissance. Les sels biliaires, le cristal violet, la ticarcilline, et la polymyxine B jouent le rôle d'inhibiteurs pour supprimer la flore normale et les autres pathogènes. L'ajout de phosphates permet de maintenir un pH stable. Le magnésium et le fer sont des facteurs de croissance pour de nombreux non fermentants anciennement considérés comme faisant partie du genre *Pseudomonas*. Les deux milieux sont recommandés pour l'isolement de *B. cepacia* à partir d'échantillons cliniques. 1,7,8

REACTIFS

Formules* par litre d'eau purifiée

BD Cepacia Medium		BD OFPBL Agar	
Peptones	8,0 g	Digestion pancréatique de caséine	2,0 g
Sulfate d'ammonium	1,0	Chlorure de sodium	5,0
Pyruvate de sodium	5,0	Phosphate bipotassique	0,3
		d'hydrogène	
Sulfate de magnésium	0,2	Bleu de bromothymol	0,03
Sulfate d'ammonium ferreux	0,01	Lactose	10,0
Dihydrophosphate de potassium	4,35	Gélose	15,0 g
Phosphate d'hydrogène disodique	1,42	Polymyxine B	300 000
			U
Rouge de phénol	0,02	Bacitracine	200 U
Sels biliaires	0,5	pH de 6,8 +/- 0,2	
Gélose	12,0		
Ticarcilline	0,1		
Polymyxine B	300 000		
	U		
Cristal violet	1,0 mg		
pH de 6.3 ± 0.2			

^{*}Ajustées et/ou complémentées en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

. A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.

Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer les boîtes de Pétri avec les souches mentionnées ci-dessous. Incuber en conditions aérobie pendant 20 à 24 h, entre 30 et 35 °C ou entre 35 et 37 °C.

Souches	BD Cepacia Medium	BD OFPBL Agar
Burkholderia cepacia	Croissance moyenne à	Croissance bonne à
ATCC 25416	importante ; colonies jaune	importante ; colonies
	pâle à rose, milieu rose à rose-	transparentes à jaunes, milieu
	rouge	jaune
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibition complète	Inhibition complète
Pseudomonas aeruginosa	Inhibition partielle à complète	Inhibition complète
ATCC 27853		
Stenotrophomonas maltophilia	Inhibition partielle à complète	Inhibition partielle à complète
ATCC 13637		
Staphylococcus aureus	Inhibition partielle à complète	Inhibition complète
ATCC 25923		
Sans ensemencement	Jaune à orange	Verte

METHODE

Matériaux fournis

BD Cepacia Medium ou **BD OFPBL Agar**, tous deux fournis en boîtes de Pétri **Stacker**. Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Ces milieux servent sont utilisés pour l'isolement à partir d'échantillons cliniques tels que ceux provenant des voies respiratoires, urinaires et autres (Voir aussi CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE). En ce qui concerne les patients atteints de mucoviscidose, les échantillons admis comprennent les liquides de lavage broncho-alvéolaire (à privilégier), les expectorations, les aspirations rhinopharyngiennes et les écouvillonnages bucco-pharyngiens.

Mode opératoire du test

Ensemencer l'un de ces milieux avec l'échantillon dès son arrivée au laboratoire. Strier afin de créer l'isolement. Pour isoler la totalité des pathogènes impliqués dans l'infection, il convient d'ensemencer non seulement le BD Cepacia Medium ou la BD OFPBL Agar, mais aussi une BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood et une BD MacConkey II Agar. Incuber le BD Cepacia Medium ou la BD OFPBL Agar en conditions aérobie, entre 30 et 35 °C ou entre 35 et 37 °C, pendant 18 à 24 h ou davantage si nécessaire. Certaines souches de *B. cepacia* préfèrent la plage de températures plus basse ou nécessitent une incubation de 72 h pour bien se développer. Incuber les autres milieux comme il convient.

Résultats

Après incubation, les colonies typiques de *B. cepacia* présentes dans le **BD Cepacia Medium** apparaissent jaune pâle à rose, et sont cernées de zones de couleur rose à rose-rouge. Sur la **BD OFPBL Agar**, les colonies typiques de *B. cepacia* apparaissent transparentes à jaunes, et sont cernées de zones de couleur jaune.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

Le **BD Cepacia Medium** et la **BD OFPBL Agar** sont recommandés pour l'isolement de *Burkholderia cepacia* à partir d'échantillons cliniques présumés contenir une flore normale contaminante, comme les (mais non limité aux) échantillons de voies respiratoires et urinaires.^{1,7,8}

Gilligan *et al.*, qui ont élaboré la Pseudomonas Cepacia Agar pour servir de milieu sélectif différentiel, sont parvenus à isoler *B. cepacia* à partir des sécrétions respiratoires de 35 patients atteints de mucoviscidose avec ce milieu, alors que seuls 21 isolats ont été obtenus sur une MacConkey Agar.⁵

D'autres bactéries résistantes aux agents sélectifs sont susceptibles de se développer dans ces milieux.

Burkholderia gladioli, dont la présence dans les échantillons de voies respiratoires de patients atteints de la mucoviscidose a été montrée, se développe sur la OFPBL Agar et peut présenter un aspect semblable à *B. cepacia*.⁹

Des tests supplémentaires comme une coloration de Gram et une identification biochimique complète sont nécessaires pour confirmer la présence de *B. cepacia*.¹

REFERENCES

- Gilligan, P.H., G. Lum, P.A.R. Vandamme, and S. Whittier. 2003. Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Brevundimonas, Comamonas, Delftia, Pandoraea, and Acidovorax. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 2. Gilligan, P.H. 1991. Microbiology of airway disease in patients with cystic fibrosis. Clin. Microbiol. Rev. 4: 35-51.

- 3. Gilligan, P.H., and D.V. Schidlow. 1984. The role of *Pseudomonas cepacia* in pulmonary disease of cystic fibrosis patients. Clin. Microbiol. Newsl. 6: 42-44.
- 4. O'Neil, K.M., et al. 1986. *Pseudomonas cepacia*: an emerging pathogen in chronic granulomatous disease. J. Pediatr. 108: 940-942.
- 5. Gilligan, P.H., et al. 1985. Isolation medium for the recovery of *Pseudomonas cepacia* from respiratory secretions of patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 25: 5-8.
- 6. Welch, D.F., et al. 1987. Selective and differential medium for recovery of *Pseudomonas cepacia* from the respiratory tracts of patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 25: 1730-1734.
- Carson, L.A., et al. 1988. Comparative evaluation of selective media for isolation of Pseudomonas cepacia from cystic fibrosis patients and environmental sources. J. Clin. Microbiol. 26: 2096-2100.
- 8. Tablan, O.C., et al. 1987. Laboratory proficiency test results on use of selective media for isolating *Pseudomonas cepacia* from simulated sputum specimens of patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 25: 485-487.
- 9. Christenson, J.C., et al. 1989. Recovery of *Pseudomonas gladioli* from respiratory tract specimens of patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 27: 270-273.

CONDITIONNEMENT

BD Cepacia Medium

N° réf. 256180 Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

BD OFPBL Agar

N° réf. 254481 Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12 D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

http://www.bd.com

http://www.bd.com/europe/regulatory/

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2014 BD