

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

APPLICATION

La **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** (gélose Brucella avec 5 % de sang de cheval) est utilisée pour l'isolement et la culture des espèces de bactéries exigeantes et non exigeantes, et notamment les *Brucella*, à partir d'échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

La brucellose est une zoonose dont les animaux domestiques sont le réservoir principal. La transmission de la maladie s'effectue habituellement par le lait, les produits laitiers et les viandes, et par exposition directe aux animaux infectés.¹⁻³ La Brucella Agar a été élaborée pour la culture des *Brucella* spp. à partir d'échantillons prélevés pour diagnostic tels que le sang, les aliments et d'autres matières susceptibles d'être contaminées. La Brucella Agar est préparée d'après la formule de l'APHA conçue pour l'Albimi Broth, qui sert à l'isolement des *Brucella* spp.⁴⁻⁷ La **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** est particulièrement utile pour la culture des microorganismes les plus exigeants, qu'ils soient aérobies, microaérophiles ou anaérobies, et notamment les streptocoques, pneumocoques, *Listeria*, *Brucella*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* et les *Helicobacter pylori*.^{1,6-10}

Ce milieu favorise le développement des microorganismes exigeants grâce à la présence de peptones, de dextrose, d'extrait de levure et de sang. Les peptones fournissent de l'azote organique. L'extrait de levure constitue une importante source de vitamines B. Le glucose tient lieu de source d'énergie. Le sang de cheval fournit les facteurs X et V nécessaires à la croissance de certains microorganismes, p. ex. *Haemophilus influenzae*.

Il faut souligner que les réactions bêta-hémolytiques dépendent du type de sang ajouté ; ainsi, les entérocoques, qui n'hémolysent que très rarement le sang de mouton, produisent une bêta-hémolyse nettement visible sur les milieux contenant du sang de cheval. *Staphylococcus aureus*, qui est généralement bêta-hémolytique sur le sang de mouton, est fréquemment non hémolytique sur le sang de cheval. Il est possible de différencier les streptocoques bêta-hémolytiques et les *Haemophilus haemolyticus* en effectuant une coloration de Gram sur un frottis préparé à partir de la colonie étudiée.

REACTIFS

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

Formule* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	10,0 g
Digestion peptique de tissu animal	10,0
Glucose	1,0
Extrait de levure	2,0
Chlorure de sodium	5,0
Bisulfite de sodium	0,1
Gélose	15,0
Sang de cheval défibriné	5 %

pH 7,0 ± 0,2

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . 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.

Les méthodes de laboratoire impliquant des *Brucella* nécessitent un équipement et des techniques particulières afin de minimiser les risques microbiologiques.^{1,9} Appliquer impérativement les pratiques de sécurité biologique de niveau 3 lors de la manipulation des échantillons et des cultures.

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 des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus d'informations, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber les boîtes de Pétri ensemencées en atmosphère aérobie complémentée en dioxyde de carbone, à 35 ± 2 °C. Examiner les boîtes au bout de 18 à 24 h afin de contrôler la croissance, la taille des colonies et les réactions hémolytiques.

Souches	Croissance
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Croissance bonne à importante, bêta-hémolyse
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Croissance bonne à importante, alpha-hémolyse
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Croissance bonne à importante, bêta-hémolyse possible
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	Croissance bonne à importante, colonies transparentes de taille petite à moyenne, absence d'hémolyse
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Croissance bonne à importante, colonies de grande taille, brillantes et grises
Sans ensemencement	Rouge (couleur sang)

METHODE

Matériaux fournis

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

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

Types d'échantillons

La **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** peut être utilisée pour tous les types d'échantillons, lorsque des microorganismes exigeants et à croissance lente sont présumés être à l'origine d'une infection. Les échantillons les mieux adaptés pour le diagnostic de la brucellose sont le sang et la moelle osseuse. Pour connaître les techniques appropriées de prélèvement et de transport de ces échantillons, consulter les publications citées en référence.^{1,8,9} Il convient d'étiqueter les échantillons prélevés sur des patients présumés infectés par la brucellose afin de limiter les risques d'exposition à cet agent dans le laboratoire. Ce milieu ne doit pas être utilisé comme milieu d'isolement primaire universel (voir également la rubrique **CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**).

Mode opératoire du test

Strier le milieu 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 une flore mixte.

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.

L'isolement primaire de nombreux agents pathogènes nécessitant la présence de dioxyde de carbone, il convient d'incuber les boîtes de Pétri dans une atmosphère contenant environ 5 % de CO₂.

Incuber les boîtes de Pétri à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 h, en atmosphère aérobie complémentée en dioxyde de carbone. Pour l'isolement de *Brucella*, une incubation entre 35 et 37 °C pendant 3 à 7 jours ou davantage peut s'avérer nécessaire. Consulter les publications citées en référence.^{1,8}

Résultats

Après incubation, la plupart des boîtes présentent une zone de croissance agglomérée. La procédure de striation étant, en réalité, une technique de « dilution », des nombres décroissants de microorganismes sont progressivement déposés dans les zones striées. 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. Consulter les publications citées en référence pour l'isolement et l'identification de *Brucella*.^{1,2,8}

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** est une formulation standard destinée à l'isolement des bactéries exigeantes, streptocoques, pneumocoques, *Listeria*, *Brucella*, *Neisseria meningitidis*, et *Haemophilus influenzae*.^{1,2,6-8} De plus, son utilisation comme milieu d'isolement primaire pour *Helicobacter pylori* est recommandée.¹⁰ Comme ce milieu n'est pas sélectif, de nombreux microorganismes exigeants et non exigeants s'y développent. Pour l'isolement de microorganismes spécifiques à partir d'échantillons fortement contaminés, il convient d'utiliser également des milieux sélectifs appropriés. Ce milieu peut aussi servir de milieu de repiquage pour les hémocultures, p. ex. en cas de suspicion de brucellose.^{1,3,9}

Ce milieu n'est pas communément utilisé comme milieu d'isolement primaire universel. Pour cela, des formulations à base de gélose Columbia ou de Trypticase Soy Agar, complémentées en sang, sont plus fréquemment utilisées.^{2,6,8} Bien que le milieu convienne pour les anaérobies stricts, l'utilisation de milieux enrichis, p. ex. une **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**, est préférable.⁶

Des procédures de différenciation et d'identification supplémentaires sont nécessaires pour déterminer les microorganismes isolés sur ce milieu.^{1,8}

REFERENCES

1. Chu, M.C., and R.S. Weyant. 2003. *Francisella* and *Brucella*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Tenover. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
3. Yagupsky, P. 1999. Detection of brucellae in blood cultures. J. Clin. Microbiol. 37: 3437-3442.
4. Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (ed.). 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of food, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
5. Hausler, W. J. (ed.). 1976. Standard methods for the examination of dairy products, 14th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, vol. 1, p.110-114. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

8. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Seifert, H., et al. 1997. Sepsis – Blutkulturdiagnostik. *In: MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik*, vol. 3. G. Fischer Verlag. Stuttgart, Germany.
10. Versalovic, J., and J.G. Fox. 2003. *Helicobacter*. *In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

CONDITIONNEMENT

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

N° réf. 255027

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 and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

© 2013 BD