



BD CDC Anaerobe Agar + 5% Sheep Blood

APPLICATION

La **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** (gélose CDC pour anaérobies avec 5 % de sang de mouton) est un milieu non sélectif servant à l'isolement et à la culture de bactéries exigeantes strictement anaérobies issues d'échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

La CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood a été formulée par Dowell *et al.*, du Centers for Disease Control and Prevention (centre épidémiologique), en tant que milieu non sélectif complétement destiné à l'isolement et à la culture d'une grande diversité de microorganismes strictement anaérobies, en particulier ceux présents dans des matériaux cliniques.¹⁻⁴ Le milieu contient de la **Trypticase** Soy Agar complétement par une gélose servant de base nutritive. Le chlorure de sodium assure l'équilibre osmotique du milieu. Le sang de mouton, l'hémine, la cystine et la vitamine K1 apportent les facteurs de croissance nécessaires à certains anaérobies stricts.^{1, 5-7} Il a été démontré que ce milieu favorise la croissance de *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium haemolyticum*, ainsi que certaines souches d'*Actinomyces israelii* et de *Bacteroides thetaiotaomicron*.² De plus, il a été rapporté que ce milieu présentait une variante de colonies de *Bacteroides fragilis*, moins lisses voire même rugueuses, que celles obtenues sur une Schaedler Blood Agar.⁵

REACTIFS

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood

Formule* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	15,0 g
Digestion papaïque de semoule de soja	5,0
Chlorure de sodium	5,0
Gélose	20,0
Extrait de levure	5,0
Hémine	0,005
Vitamine K1	0,01
L-Cystine	0,4
Sang de mouton défibriné	5 %

pH 7,5 ± 0,2

*Ajustée et/ou complétement 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.

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 des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus d'informations, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber pendant 48 à 72 h en atmosphère anaérobie (p. ex. avec le système anaérobie **BD GasPak**).

Souches	Croissance
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Croissance bonne à importante
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Croissance bonne à importante
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Croissance bonne à importante
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Croissance bonne à importante
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Croissance moyenne à bonne
Sans ensemencement	Rouge à rouge foncé (couleur sang)

METHODE

Matériaux fournis

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep 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

Ce milieu non sélectif sert à l'isolement et à la culture des anaérobies stricts issus de tous les types d'échantillons cliniques (voir aussi la rubrique **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**). Respecter les techniques approuvées de sélection, de prélèvement et de transport des échantillons anaérobies.⁸⁻¹¹ Il convient d'utiliser un milieu de transport adapté, p. ex. le **BD Port-A-Cul**.

Mode opératoire du test

Strier 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. Ou bien, si le prélèvement est mis en culture directement à partir d'un écouvillon, rouler celui-ci sur une petite partie de la gélose au niveau du bord de la boîte, puis strier la gélose à partir de cette zone ensemencée.

Pour tous les échantillons, il est recommandé d'utiliser au moins deux milieux afin d'isoler les bactéries strictement anaérobies. Une boîte de Pétri, la **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**, est incubée en conditions anaérobies après l'ensemencement. Une seconde boîte de Pétri, p. ex. la **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, doit être incubée en atmosphère aérobie contenant 5 à 10 % de dioxyde de carbone, afin d'isoler les éventuels pathogènes aérobies. De plus, un milieu anaérobie sélectif envers les anaérobies stricts à Gram négatif, tel que la **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood**, doit aussi être ensemencé. L'utilisation d'un système anaérobie **BD GasPak** garantit l'obtention simple et efficace de conditions anaérobies appropriées. Indépendamment du système anaérobie utilisé, il est important d'inclure un indicateur d'anaérobiose tel que l'indicateur anaérobie jetable **GasPak**. Pour plus d'informations sur le traitement des échantillons, consulter les documents cités en référence.^{8-10,12,13}

Incuber les boîtes de Pétri dans une atmosphère appropriée, entre 35 et 37 °C, pendant 48 h minimum et 7 jours maximum avant de conclure à la négativité du résultat.

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 prolifération de chaque organisme peut être mesurée semi-quantitativement sur la base de la croissance dans chaque zone striée.

Tous les anaérobies stricts et facultatifs se développent sur la **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**. La croissance obtenue dans ce milieu anaérobie est comparée à celle produite par la **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** incubée en conditions aérobies, qui contient uniquement les anaérobies facultatifs. La croissance sur la **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** est ensuite comparée à celle observée sur les deux autres milieux. Si des cultures mixtes d'anaérobies stricts et facultatifs sont détectées, effectuer les repiquages appropriés, à partir des milieux anaérobies, sur des milieux non sélectifs, incubés en atmosphère aérobie et anaérobie, afin de confirmer le caractère anaérobie strict de l'isolat. Pour connaître les autres procédures de différenciation et d'identification, consulter les publications citées en référence.^{8-10,14}

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

Sur la **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**, qui est l'un des milieux standard non sélectifs utilisés pour isoler les anaérobies stricts, peuvent se développer des *Bacteroides*, des *Prevotella*, des *Porphyromonas*, des *Fusobacterium*, des *Clostridium*, des *Peptostreptococcus*, des bâtonnets non sporulés strictement anaérobies (p. ex. le genre anciennement désigné *Eubacterium*), des *Mobiluncus*, des *Actinomyces* et bien d'autres microorganismes.^{4,9,10,14-16}

Noter que le taux de croissance des anaérobies stricts varie considérablement. Si *Bacteroides fragilis* se développe facilement après 24 h, *Mobiluncus* ou les souches de *Porphyromonas* requièrent 4 à 5 jours et *Actinomyces* nécessite 1 à 3 semaines, voire davantage, pour produire des colonies bien visibles. Si les cultures s'avèrent négatives après 2 ou 3 jours d'incubation, incuber à nouveau en conditions anaérobies pendant 2 à 3 jours supplémentaires. Si la présence d'*Actinomyces* est présumée, des cultures spéciales doivent être ensemencées et examinées après 1, 2 puis 3 semaines d'incubation.

Ce milieu n'est pas spécifiquement sélectif pour les anaérobies stricts. Lorsqu'il est incubé en conditions anaérobies, des microorganismes facultatifs vont également s'y développer. Par conséquent, si des cultures mixtes sont obtenues, il est important de comparer le résultat de la culture incubée en anaérobie avec celui d'une boîte incubée en atmosphère aérobie.

La **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** ne contient pas de glucose ni d'autres sucres. Par conséquent, les microorganismes fortement saccharolytiques tels que les lactobacilles et certains *clostridia* saccharolytiques s'y développent assez lentement. La **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** est le milieu recommandé pour l'isolement non sélectif de ces microorganismes.

La quantité et les types d'espèces bactériennes constituant des agents infectieux sont très importants. Aussi, avant d'utiliser régulièrement ce milieu pour quantifier des microorganismes rarement isolés ou récemment identifiés, il convient de tester ses capacités en produisant des cultures pures du microorganisme concerné.

REFERENCES

1. Dowell, V.R., Jr., G.L. Lombard, F.S. Thompson, and A.Y. Armfield. 1977. Media for isolation, characterization, and identification of obligately anaerobic bacteria. CDC laboratory manual. Center for Disease Control, Atlanta.
2. Dowell, V.R., Jr., and T.M. Hawkins. 1987. Laboratory methods in anaerobic bacteriology. CDC laboratory manual. HHS Publication No. (CDC) 87-8272. Centers for Disease Control, Atlanta.
3. Rodloff, A.C., P.C. Appelbaum, and R.J. Zabransky. 1991. Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology. Coordinating ed., A.C. Rodloff. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Isenberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Starr, S.E., G.E. Killgore, and V.R. Dowell, Jr. 1971. Comparison of Schaedler agar and Trypticase soy- yeast extract agar for the cultivation of anaerobic bacteria. Appl. Microbiol. 22:655-658.

6. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. *J. Bacteriol.* 80:164-170.
7. Wilkins, T.D., S.L. Chalgren, F. Jimenez-Ulate, C.R. Drake, Jr., and J.L. Johnson. 1976. Inhibition of *Bacteroides fragilis* on blood agar plates and reversal of inhibition by added hemin. *J. Clin. Microbiol.* 3:359-363.
8. Holdeman, L.V., E.P. Cato, and W.E.C. Moore (ed.). 1977. *Anaerobe laboratory manual*, 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.
9. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. *Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology*. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
10. Summanen, P., E.J. Baron, D.M. Citron, C.A. Strong, H.M. Wexler, and S.M. Finegold. 1993. *Wadsworth anaerobic bacteriology manual*, 5th ed. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
11. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1995. Specimen Collection, transport, and storage. *In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Murray, P.R., and D.M. Citron. 1991. General processing of specimens for anaerobic bacteria. *In: A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology*, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Forbes, B.A. and P.A. Granato. 1995. Processing specimens for bacteria. *In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1995. *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
15. Thomson Jr., R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen Collection, transport, and processing: bacteriology. *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.
16. 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*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

CONDITIONNEMENT

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood

N° réf. 256506

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, Trypticase, Stacker, Port-A-Cul and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company

© 2013 BD