

# **BD Milieux BBL prêts à l'emploi en tubes, servant à la culture des microorganismes anaérobies**

## **Milieu thioglycolate**



8807191JAA(01)  
2013-11  
Français

### **APPLICATION**

Le Fluid Thioglycollate Medium Enriched (milieu thioglycolate liquide enrichi) est un milieu polyvalent servant à la culture d'un grand nombre de microorganismes, notamment des anaérobies obligatoires.

Le Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate (milieu thioglycolate au carbonate de calcium) est également recommandé pour le maintien des cultures mères.

### **RÉSUMÉ ET EXPLICATION**

Le milieu thioglycolate a été décrit à l'origine par Brewer comme un milieu favorisant la croissance des anaérobies obligatoires et des microorganismes aérobies.<sup>1</sup> Par la suite, plusieurs versions du milieu ont été formulées.

L'incorporation de carbonate de calcium, qui neutralise l'acidité produite lors de la croissance, est recommandée pour éviter une extinction rapide de la croissance des microorganismes exigeants.<sup>2,3</sup>

### **PRINCIPES DE LA MÉTHODE**

La caséine, les peptones de soja et la L-cystine apportent les acides aminés et les autres composés azotés nécessaires à la croissance bactérienne. L'extrait de levure apporte le complexe vitaminiq B. Le chlorure de sodium apporte les électrolytes essentiels. Le dextrose est une source d'énergie.

Le Fluid Thioglycollate Medium, Enriched (milieu thioglycolate liquide enrichi) est complété d'hémine et de vitamine K<sub>1</sub> pour favoriser la croissance de certaines bactéries anaérobies.<sup>3-5</sup>

Le carbonate de calcium améliore le maintien des cultures mères en neutralisant l'acidité produite lors de la croissance.<sup>3</sup>

Par leur action réductrice, le thioglycolate de sodium et le sulfite de sodium capturent l'oxygène moléculaire, maintenant ainsi un faible potentiel redox.<sup>6</sup> Une petite quantité de gélose est ajoutée pour retarder l'absorption de l'oxygène en réduisant les courants de convection dans le milieu.<sup>6</sup>

La résazurine est un indicateur coloré servant à détecter les variations de potentiel redox.<sup>3</sup> Un milieu plus oxydant augmente le potentiel redox et fait virer la résazurine au rose. Le milieu reste incolore lorsque le potentiel redox est faible.

### **RÉACTIFS**

#### **Fluid Thioglycollate Medium, Enriched**

Formule approximative\* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine .....	15,0 g
L-Cystine .....	0,5 g
Dextrose .....	5,0 g
Extrait de levure.....	5,0 g
Chlorure de sodium .....	2,5 g
Thioglycolate de sodium .....	0,5 g
Résazurine .....	0,001 g
Gélose .....	0,75 g
Hémine.....	0,1 g
Vitamine K <sub>1</sub> .....	2,0 mg

#### **Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate**

Formule approximative\* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine .....	17,0 g
Digestion papaïnique de semoule de soja.....	3,0 g
Dextrose .....	6,0 g
Chlorure de sodium .....	2,5 g
Thioglycolate de sodium .....	0,5 g
Gélose .....	0,7 g
Sulfite de sodium .....	0,1 g
Éclat de marbre .....	1 par tube

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

#### **Avvertissements et précautions : pour le diagnostic *in vitro*.**

Il faut user de précautions lorsque l'on rend les résultats directs de la coloration Gram et d'autres colorations microbiologiques obtenus sur des échantillons de tissus préparés avec ce milieu du fait de la présence possible d'organisme non viables dans ce milieu.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Les « précautions d'usage »<sup>7-10</sup> et les directives en vigueur dans le laboratoire doivent être appliquées lors de la manipulation de tout objet contaminé par du sang ou d'autres liquides physiologiques.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

**Instructions pour la conservation :** dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité conformément aux instructions de la notice. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas les ouvrir prématurément. Les maintenir à l'abri de la lumière. Conservés comme indiqué sur l'étiquette, les milieux en tube 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 ou d'évaporation, ou d'autres signes de détérioration.

Dans le cas du Fluid Thioglycollate Medium, Enriched, jeter les tubes si plus d'un tiers du milieu est oxydé, comme l'indique la formation d'une coloration rose.

## PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Ces milieux ne conviennent pas pour réaliser une culture directe d'échantillons cliniques, excepté comme bouillon d'enrichissement « auxiliaire » en complément des milieux d'étalement primaires. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations.<sup>4,11,12</sup>

## MÉTHODE

**Matériel fourni :** selon commande (voir « CONDITIONNEMENT »).

**Matériaux requis mais non fournis :** milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis pour cette méthode.

**Mode opératoire du test :** respecter les techniques d'asepsie.

Avant de les ensemencer, réduire les milieux destinés à une incubation anaérobie en plaçant les tubes, avec les bouchons desserrés, en condition anaérobie pendant 18 à 24 h avant l'emploi. Le système anaérobie BBL **GasPak** EZ permet d'obtenir facilement et efficacement des conditions anaérobies adéquates. Immédiatement avant l'emploi, les milieux liquides peuvent aussi être réduits par ébullition, avec les bouchons desserrés, puis par refroidissement jusqu'à température ambiante, avec les bouchons bien vissés, avant d'être ensemencés. **REMARQUE :** pour des performances optimales, ne pas faire bouillir les tubes plusieurs fois.

Ensemencer les milieux préconisés avec l'échantillon dès réception au laboratoire. Dans le cas d'un échantillon liquide, ensemencer les milieux en tube avec une ou deux gouttes d'échantillon. Les biopsies servant à la culture des microorganismes doivent être hachées et dilacérées dans du bouillon réduit stérile comme l'Enriched Thioglycollate Medium. Procéder ensuite comme pour un échantillon liquide pour ensemencer le milieu. Les écouvillonnages peuvent être introduits dans le bouillon après ensemencement des milieux en boîte de Pétri. L'écouvillon peut également être « frotté » dans un petit volume de bouillon réduit stérile comme l'Enriched Thioglycollate Medium. Procéder ensuite comme pour un échantillon liquide pour ensemencer les milieux avec ce bouillon.

Les échantillons suspectés de contenir ou contenant des anaérobies obligatoires doivent être ensemencés à proximité du fond du tube. Incuber à 35 ± 2 °C ou une autre température appropriée, de préférence en conditions anaérobies.

Les cultures en bouillon doivent être maintenues pendant au moins 1 semaine avant de conclure à un test négatif.

### Contrôle de qualité par l'utilisateur :

1. S'assurer que les tubes ne présentent aucun signe de détérioration, comme indiqué à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Contrôler les performances en ensemencant un échantillon représentatif de chaque tube avec des cultures pures de souches de contrôle stables, produisant une réaction connue. Les cultures suivantes sont recommandées :

Milieu	Souche de test	Résultats attendus
Tous les milieux	<i>Bacteroides vulgatus</i>	Croissance
	ATCC 8482	
	<i>Clostridium perfringens</i>	Croissance
	ATCC 13124	

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 correspondantes pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

## RÉSULTATS

La croissance est mise en évidence par l'apparition d'une turbidité comparativement au milieu de contrôle non ensemencé.

Examiner la croissance par une coloration de Gram. Repiquer sur des milieux d'étalement sélectifs et non sélectifs appropriés.

## LIMITES DE LA PROCÉDURE

Les bouillons d'enrichissement ne doivent pas être utilisés comme seul milieu d'isolement. Ils doivent être utilisés conjointement avec des milieux d'étalement sélectifs et non sélectifs pour accroître la probabilité d'isolement des pathogènes, notamment lorsqu'ils sont présents en petit nombre.

Pour procéder à l'identification, les microorganismes doivent se trouver en culture pure. L'identification définitive nécessite des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques.<sup>4,11,13-16</sup>

## CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Tous les lots de Fluid Thioglycollate Medium, Enriched sont testés en usine afin de vérifier la conformité des performances avec les spécifications. Avant ensemencement, des échantillons représentatifs du lot sont réduits au bain-marie à ébullition pendant au moins 10 min., puis refroidis. À l'aide d'un ensemencement à anse calibrée de 0,01 mL, ensemencer les tubes avec des cultures de turbidité équivalente à celle d'un standard McFarland 0,5. Les inoculum de *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) et *Peptostreptococcus anaerobius* (ATCC 27337) sont préparés à partir de colonies prélevées sur une gélose anaérobie du CDC complétée de 5 % de sang de mouton. Leur densité est ajustée par ajout d'Enriched Thioglycollate Medium pré-réduit. L'inoculum de *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482) est prélevé sur le Thioglycollate Medium, Enriched et l'inoculum de *C. novyi* (ATCC 7659) est prélevé sur du bouillon Chopped Meat Glucose Broth, PR II. Les tubes sont ensemencés sous la surface des bouillons, aussi profondément que possible dans le milieu. Les bouchons sont vissés immédiatement après ensemencement et les tubes sont incubés à  $35 \pm 2$  °C en conditions aérobies. Les tubes sont examinés après 18 à 24 h et 42 à 48 h pour évaluer la croissance bactérienne. Toutes les cultures présentent une croissance très faible à importante après 48 h.

Tous les lots de Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate sont testés en usine afin de vérifier la conformité des performances avec les spécifications. Avant ensemencement, des échantillons représentatifs du lot sont réduits au bain-marie à ébullition pendant au moins 10 min., puis refroidis. À l'aide d'un ensemencement à anse calibrée de 0,01 mL, ensemencer les tubes avec des cultures de turbidité équivalente à celle d'un standard McFarland 0,5. L'inoculum de *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) est préparé à partir de colonies prélevées sur une gélose anaérobie du CDC complétée de 5 % de sang de mouton. Sa densité est ajustée par ajout d'Enriched Thioglycollate Medium préalablement réduit. L'inoculum de *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482) est prélevé sur le Thioglycollate Medium, Enriched et l'inoculum de *C. novyi* (ATCC 7659) est prélevé sur du bouillon Chopped Meat Glucose Broth, PR II. Les tubes sont ensemencés sous la surface des bouillons, aussi profondément que possible dans le milieu. Les bouchons sont vissés immédiatement après ensemencement et les tubes sont incubés à  $35 \pm 2$  °C en conditions aérobies. Les tubes sont examinés après 18 à 24 h et 42 à 48 h pour évaluer la croissance bactérienne. Toutes les cultures présentent une croissance très faible à importante après 48 h.

## CONDITIONNEMENT

### N° Cat. Description

297642 **BBL** Fluid Thioglycollate Medium, Enriched, carton de 100 tubes de taille K. **CE**

298518 **BBL** Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate, carton de 100 tubes de taille K. **CE**

## RÉFÉRENCES

1. Brewer, J.H. 1940. A clear liquid medium for the "aerobic" cultivation of anaerobes. *J. Bacteriol.* 39:10.
2. Vera, H.D. 1944. A comparative study of materials suitable for the cultivation of clostridia. *J. Bacteriol.* 47:59-70.
3. Reischelderfer, C., and J.I. Mangels. 1992. Culture media for anaerobes, p.2.3.1-2.3.8. In H.D. Isenberg (ed.), *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 12th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
5. 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.
6. MacFaddin, J.F. 1985. *Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria*, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, 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. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th 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. Rodloff, A.C., P.C. Applebaum, and R.J. Zabransky. 1991. *Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology*. Coordinating ed., A.C. Rodloff. American Society of Microbiology, Washington, D.C.
12. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1999. Specimen collection, transport, and storage, p. 33-63. *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.
13. 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.
14. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. *Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology*. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
15. 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.
16. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. *Bergey's Manual of determinate bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

-  Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Üretici / Proizvođač / Производител / Атқарушы
-  Use by / Spotřebuje do / Anvendes for / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes for / Stosować do / Utilizar em / Použít do / Usar antes de / Använd före / Исполняйте до / A se utiliza până la / Son kullanna tarihi / Upotrebiti do / Исползовать до / дейин пайдалануға / Uprzitijsbiti do / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) / JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) / AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) / VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) / AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) / JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) / EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) / ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) / ÁÁÁÁ-MM-GG / ÁÁÁÁ-MM (MM = fine mese) / MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mensesio pabaiga) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = sluttet av måneden) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) / AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiacu) / aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) / TTTT-MM-DD / TTTT-MM (MM = края на месеца) / AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) / YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) / GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) / TTTT-MM-DD / TTTT-MM (MM = конец месяца) / ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы)
- REF** Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalognummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalogszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog numerasi / Kataloški broj / Номер по каталогу / Каталог номер
- EC/REP** Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret representant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Reprezentante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизирован представитель в EU / Reprezentant autorizat în Uniunea Europeană / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Ovlašćeni predstavnik u Evropskoj zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл
- IVD** In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařizení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniparatuur / Lääkinläninen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisais / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicinska pomůcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицинский уред за диагностика in vitro / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostic Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Жасанды жагдайда журізіетін медициналық диагностика аспабы
-  Temperature limitation / Teplotni omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimitet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hömersékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning / Температури ограничения / Limitare de temperatură / Sicaklık sınırlaması / Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу
- LOT** Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Număr lot (Lotul) / Partii Kodu (Lot) / Kod serije / Код партии (lot) / Топтама коды
-  Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları na başvurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз

 Becton, Dickinson and Company  
7 Loveton Circle  
Sparks, MD 21152 USA

**EC/REP** Benex Limited  
Pottery Road, Dun Laoghaire  
Co. Dublin, Ireland