

# MODE D'EMPLOI – MILIEUX **EN BOITES DE PETRI** PRETS A L'EMPLOI

Rev.: April 2013

PA-254419.06

# **BD Pseudosel Agar (Cetrimide Agar)**

#### **APPLICATION**

La BD Pseudosel Agar (gélose Pseudosel) (gélose cétrimide) est utilisée pour l'isolement sélectif de Pseudomonas aeruginosa à partir d'échantillons cliniques.

### PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Pseudomonas aeruginosa est un microorganisme environnemental et un agent pathogène nosocomial important. La **BD Pseudosel Agar** est basée sur la formule de la Tech Agar, élaborée par King et al., visant à stimuler la production de pyocyanine de Pseudomonas aeruginosa. Toutefois, elle est modifiée par l'ajout de cétrimide, qui permet l'inhibition sélective de microorganismes autres que P. aeruginosa.<sup>2,3</sup> Ce milieu est utilisé pour l'isolement de P. aeruginosa, tant dans les zones pharmaceutiques que cliniques, et les pharmacopées américaine et européenne mentionnent son utilisation dans les tests de dénombrement de microorganismes. 1,3-5

Dans la BD Pseudosel Agar, la peptone constitue une source d'azote et le glycérol est utilisé comme source de carbone et d'énergie. La production de pyocyanine dans le milieu est stimulée par le chlorure de magnésium et le sulfate de potassium. La cétrimide (bromure de cétyltrimétylamonium) est un composé d'ammonium quaternaire qui inhibe le développement d'un grand nombre de microorganismes, notamment de certains autres Pseudomonas spp. et microorganismes apparentés.

# **REACTIFS BD Pseudosel Agar**

Formule\* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de	20,0 g
gélatine	
Chlorure de magnésium	1,4
Sulfate de potassium	10,0
Glycérol	10,0 mL
Cétrimide	0,3 g
Gélose	13,6

 $pH 7.2 \pm 0.2$ 

### **PRECAUTIONS**

. A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser les boîtes si elles présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

Consulter le document « MODE D'EMPLOI GENERAL » pour connaître les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques, ainsi que les méthodes d'élimination des produits utilisés.

#### 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 congeler ni surchauffer, Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.

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.

<sup>\*</sup>Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

### CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer les échantillons représentatifs avec les souches ci-dessous (pour plus d'informations, voir le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** »). Incuber les boîtes de Pétri en aérobie entre 35 et 37 °C et observer les résultats après 18 à 24 h, puis après 42 à 48 h.

Souches	Croissance
Pseudomonas aeruginosa	Croissance pigmentée de bleu-vert autour des
ATCC 9027	colonies ; fluorescence sous lumière UV (254 nm)
Pseudomonas aeruginosa	Croissance pigmentée de bleu-vert autour des
ATCC 27853	colonies ; fluorescence sous lumière UV (254 nm)
Stenotrophomonas maltophilia	Inhibition partielle à complète
ATCC 13637	
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibition complète
Staphylococcus aureus	Inhibition partielle à complète
ATCC 25923	
Non ensemencée	Ambre pâle

#### **METHODE**

### Matériaux fournis

**BD Pseudosel Agar** (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produit soumis à contrôle microbiologique.

#### Matériaux non fournis

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

### Types d'échantillons

Il s'agit d'un milieu sélectif pouvant être employé pour tous les types d'échantillons cliniques, notamment ceux susceptibles d'être contaminés à partir d'une flore normale, ainsi que pour les matières non cliniques (voir également la rubrique « CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE »).

## Mode opératoire du test

Diluer l'échantillon par striation dès que possible après réception par le laboratoire. La boîte d'étalement sert principalement à isoler les cultures pures à partir d'échantillons contenant des flores mixtes. Si la matière doit être cultivée directement à partir d'un écouvillon, rouler ce dernier sur une petite surface de la boîte de Pétri près du bord, puis strier l'échantillon à partir de cette zone ensemencée. Outre la BD Pseudosel Agar, ensemencer également la BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood et la BD MacConkey II Agar avec l'échantillon afin d'isoler tous les pathogènes ayant contribué à l'infection.

Incuber les boîtes de Pétri à  $35 \pm 2$  °C pendant 18 à 48 h en atmosphère aérobie et observer les résultats après 18 à 24 h puis, si nécessaire, après 42 à 48 h.

#### Résultats

Après l'incubation, observer les boîtes de Pétri afin d'évaluer la croissance et de détecter l'apparition d'une pigmentation typique allant du bleu-vert au vert en périphérie. La fluorescence peut être détectée sous une lampe UV (254 nm). La présence de pyocyanine peut être confirmée par extraction au chloroforme. Les *P. aeruginosa* produisent généralement de la pyocyanine et de la fluorescéine. La morphologie de la colonie et la formation de pigments peuvent varier d'une souche à l'autre. Pour plus d'informations, consulter les documents cités en référence.<sup>1,3</sup>

### CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Pseudosel Agar** est employée pour les échantillons cliniques et les matières non cliniques, si la présence de *P. aeruginosa* est présumée et qu'il existe une contamination élevée par d'autres microorganismes (par la flore normale, par exemple).<sup>1,4,5</sup>

Des souches de *P. aeruginosa* non pigmentées peuvent se développer sur ce milieu mais ne produisent pas de pigments bleu-vert typiques.

D'autres organismes, tels que certains non-fermentants et bactéries sporulantes aérobies (les *Bacillus* et les genres associés), peuvent parfois se développer et produire sur ce milieu des pigments tirant sur le marron ou le jaune.

D'autres tests biochimiques sont nécessaires pour confirmer l'identité d'un isolat en tant que *P. aeruginosa*, et ce, même lorsque la production pigmentaire est typique dans ce milieu.

### **REFERENCES**

- 1. Kiska, D.L., and P.H. Gilligan. 2003. *Pseudomonas. In:* Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 2. King, E.O., M.K. Ward, and E.E. Raney. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. Med. 44: 301
- 3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation cultivation maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London
- 4. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2009. The U.S. Pharmacopeia 32/The national formulary 27--2009. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md. USA
- 5. Council of Europe, 2008. European Pharmacopoeia, 6.1. European Pharmacopoeia Secretariat. Strasbourg/France

### CONDITIONNEMENT BD Pseudosel Agar

N° réf. 254419 Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités

#### 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 all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD