



BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

APPLICATION

La **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** (gélose au sang Brucella avec hémine et vitamine K1) est un milieu hautement nutritif utilisé pour l'isolement et la culture des anaérobies stricts à partir d'échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

La **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** est une modification de la Brucella Agar, à laquelle de l'hémine et de la vitamine K1 ont été ajoutées pour stimuler la croissance des anaérobies exigeants, et en particulier les *Bacteroides*, les *Prevotella* et les *Porphyromonas* incubés en atmosphère anaérobie.¹⁻³ Elle est utilisée pour l'isolement des anaérobies stricts à partir d'échantillons cliniques. Elle est aussi utilisée pour tester la sensibilité des anaérobies à l'aide de la méthode du test E.⁴⁻⁶

Dans la **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**, les peptones, l'extrait de levure et le glucose apportent les nutriments nécessaires. Le bisulfite de sodium diminue le potentiel d'oxydoréduction jusqu'à une plage de valeurs appropriée pour les anaérobies stricts. Il a été montré que l'hémine et la vitamine K1 étaient indispensables à la croissance de certains anaérobies stricts.⁷ Le sang de mouton apporte des nutriments supplémentaires et sert à la détection des réactions hémolytiques.

REACTIFS

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

Formule* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	10,0 g
Digestion peptique de tissu animal	10,0
Extrait de levure	2,0
Glucose	1,0
Chlorure de sodium	5,0
Bisulfite de sodium	0,1
Hémine	0,005
Vitamine K1	0,01
Gélose	15,0
Sang de mouton défibriné	5 %

pH 7,2 ± 0,2

*Ajustée et/ou complémentée 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 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.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus de détails, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber pendant 48 à 72 h en atmosphère anaérobie (p. ex. avec le système anaérobie **BD GasPak**) entre 35 et 37 °C.

Souches	Croissance
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Croissance bonne à importante, colonies de couleur grise
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Croissance bonne à importante, grande taille, aspect lobulé, colonies de couleur gris-blanc, bêta-hémolyse (double zone)
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Croissance bonne à importante, colonies de couleur gris-blanc entourées de zones gris foncé
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Croissance bonne à importante, colonies blanchâtres
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Croissance moyenne à bonne, colonies de couleur blanc sale à gris-marron
Sans ensemencement	Rouge à rouge foncé (couleur sang)

METHODE

Matériaux fournis

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

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

Types d'échantillons

La **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** est un milieu universel utilisé pour l'isolement et la culture d'anaérobies stricts à partir de tous types d'échantillons (voir aussi **CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**). Respecter les techniques approuvées de prélèvement et de transport des échantillons anaérobies.⁸⁻¹⁰ Il convient d'utiliser un milieu de transport adapté, p. ex. le **BD Port-A-Cul**.

La **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** est aussi employée pour tester la sensibilité des anaérobies stricts par la méthode du test E, qui nécessite l'emploi de cultures pures.⁴⁻⁶

Mode opératoire du test

Strier directement l'échantillon sur une **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** dès son arrivée, en utilisant une technique de striation approuvée. Placer aussitôt les boîtes à l'intérieur de récipients anaérobies dans lesquels une atmosphère anaérobie a été créée. Il est recommandé d'utiliser les récipients **BD GasPak** et les enveloppes d'H₂/CO₂ **BD GasPak**, avec un catalyseur. Incuber 2 à 3 jours ou plus, si nécessaire, entre 35 et 37 °C. Indépendamment du système anaérobie utilisé, il est important d'inclure également un indicateur d'anaérobiose tel que l'indicateur jetable **BD GasPak**.

Si des échantillons contenant une flore mélangée sont striés sur le milieu, il est conseillé d'inclure également un milieu sélectif telle qu'une **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** et/ou une **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**. De plus, il est possible que l'échantillon contienne des anaérobies facultatifs. C'est la raison pour laquelle il est recommandé d'inclure systématiquement un milieu aérobie (comme la **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) lors de la mise en place des cultures primaires. La boîte de Pétri est incubée en atmosphère aérobie enrichie en dioxyde de carbone avec les cultures anaérobies.⁸ Cela permet de déceler la présence éventuelle de microorganismes facultatifs dans l'échantillon.

Pour plus d'informations sur l'utilisation de la **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** dans le cadre de l'exécution de tests de sensibilité via le test E, consulter les publications citées en référence ou les instructions du fabricant.⁴⁻⁶

Résultats

Après l'incubation, examiner les boîtes de Pétri afin de contrôler la croissance. Les colonies qui se développent dans ce milieu sont présumées être des anaérobies stricts dans la mesure où elles ne se développent pas dans des boîtes de gélose au sang incubées en conditions aérobies. De plus, la croissance obtenue sur la **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** est comparée à celle observée sur les autres milieux. Si des cultures mixtes d'anaérobies stricts et facultatifs sont détectées, effectuer les repiquages correspondants, à partir du milieu anaérobie, sur des milieux non sélectifs incubés en conditions aérobies et anaérobies, afin de confirmer le caractère anaérobie strict de l'isolat. Des examens biochimiques et microscopiques complémentaires sont nécessaires pour obtenir l'identification du genre et de l'espèce des anaérobies stricts. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence, et notamment les procédures d'identification.^{6,8,9,11} Pour l'examen des résultats du test E obtenus sur ce milieu, consulter les publications citées en référence ou les instructions du fabricant.⁴⁻⁶

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**, qui est l'un des milieux non sélectifs standard utilisés pour l'isolement des anaérobies stricts, permet le développement des *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, des bâtonnets non sporulés strictement anaérobies (p. ex. le genre anciennement désigné *Eubacterium*), des *Mobiluncus*, *Actinomyces* et bien d'autres microorganismes.^{6,8-11} Par ailleurs, il est utilisé pour tester la sensibilité avec la méthode du test E.⁴⁻⁶

Résultats de performances¹²

La **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** a fait l'objet d'une évaluation en interne, réalisée avec des isolats cliniques et des souches prélevées provenant des espèces strictement anaérobies indiquées ci-dessous, et les résultats obtenus ont été comparés à ceux produits avec une **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** (= milieu de référence) : *Bacteroides fragilis*, *B. distasonis*, *Prevotella bivia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas levii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Campylobacter (Bacteroides) gracilis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium perfringens*, *Mobiluncus mulieris*, *Eggerthella lenta (Eubacterium lentum)*. Les deux milieux ont été ensemencés avec des dilutions de 10^3 à 10^4 UFC par plaque, puis incubés en conditions anaérobies pendant 3 jours. Le nombre de colonies du milieu de test était égal ou supérieur à celui du milieu de test de référence, et ce, pour l'ensemble des souches testées.

Limites de la procédure

Le taux de croissance des anaérobies stricts varie considérablement : Si *Bacteroides fragilis* se développe bien après 24 h, *Mobiluncus* ou les souches de *Porphyromonas* requièrent 4 à 5 jours et *Actinomyces* nécessite 1 à 3 semaines pour produire des colonies bien visibles. Si les cultures s'avèrent négatives après 2 ou 3 jours d'incubation, incubé à nouveau en conditions anaérobies pendant 2 à 3 jours supplémentaires. Si l'échantillon est susceptible de contenir des *Actinomyces*, il convient d'ensemencer des boîtes de culture spécifiques basées sur ce milieu et sur d'autres (p. ex. la **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) et de les observer après 1, 2 voire 3 semaines d'incubation.

Ce milieu n'est pas particulièrement sélectif pour les anaérobies stricts ; des microorganismes facultatifs vont également se 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.

REFERENCES

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.

2. 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.
3. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 368. In E.H. Lennette, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Citron, D.M., et al. 1991. Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. J. Clin. Microbiol. 29: 2197-2203.
5. Church, D.L., et al. 1996. Metronidazole susceptibility and the presence of hydrogenase in pathogenic bacteria.
6. Citron, D.A., and D.W. Hecht. 2003. Susceptibility test methods: anaerobic bacteria. 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.
7. 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.
8. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Data on file. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Germany.

CONDITIONNEMENT

BD Brucella Blood Agar With Hemin And Vitamin K1

N° réf. 255509

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

E test is a registered trademark of AB Biodisk, Solna, Sweden

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company.

© 2011 BD