

Inhibitor Test Agar (pH 7,2)

DM298

Utilisation

Milieu normalisé pour la détection des antibiotiques dans les échantillons de viande ou d'organes selon la méthode des trois boîtes.

Présentation

Voir étiquette sur la boîte.

Formule*

Composants :	Concentration dans le milieu
Mélange de peptones	7,0 g/litre
Chlorure de Sodium	5,0 g/litre
Phosphate tri-sodique	0,8 g/litre
Agar	13,0 g/litre
Final pH: 7,2 ± 0,2	

Conservation

Toutes les boîtes doivent impérativement être bien fermées et stockées jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette dans un endroit sec à une température de 10 à 25°C.

Précautions

Usage In Vitro uniquement. Respecter les précautions d'usage contre les risques biologiques et les conditions d'asepsie. Ne doit être utilisé que par un personnel de laboratoire correctement formé et qualifié. Stériliser tous les déchets biologiquement contaminés avant de les jeter. Se référer à la fiche de sécurité du produit.

Matériels nécessaires non fournis

Réactifs et équipements microbiologiques standards (anses, suppléments sélectifs MAST®, écouvillons, ensemenceurs, autoclaves et incubateurs, etc...) ainsi que des réactifs sérologiques et biochimiques et des additifs tels que le sang.

Procédure

- Se référer à l'étiquette pour les quantités et les volumes requis. Préparer la gélose Inhibitor Test Agar (pH 7,2) MAST® (DM298D) en mettant en suspension la poudre dans de l'eau distillée ou non ionisée. Pour les sachets de milieu, dissoudre tout le contenu du sachet dans le volume d'eau inscrit sur l'étiquette.
- Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.
- Refroidir à 50 à 55°C et maintenir à cette température dans un bain marie.
- Ajouter une suspension de spores de *Bacillus subtilis* (BGA) (DSM No 618) à 1ml/litre contenant environ 10⁷ CFU/ml (concentration finale du milieu de 10⁴ CFU/ml).

- Ajouter 1 ml de solution de triméthoprime contenant 50 mg/litre (concentration finale dans le milieu de 50µg/litre). Pour préparer la solution de triméthoprime, dissoudre 10mg de thrimétoprime dans 10ml d'éthanol à 50°C. Ajouter 190ml d'eau distillée ou non ionisée pour obtenir une solution à 50mg/L. Conserver cette solution plusieurs jours. Une autre possibilité consiste à ajouter un comprimé d'ADATAB® Trimethoprim 0,05mg (TAB/TM0,05) dans un litre de milieu préparé. Pour préparer des volumes de milieu plus faible, le MAST ADATAB® peut être dissous dans une petite quantité d'éthanol (0,2ml à 1,0ml). Les aliquotes pour usage unique sont conservées à 20°C avant utilisation.
- Couler la gélose en boîte de Pétri pour obtenir une épaisseur de 2mm (10 à 15 ml par boîte de 90mm) et laisser prendre.
- Les boîtes préparées doivent être utilisées immédiatement.
- Préparer les échantillons de viande en découpant en tranches de 2mm d'épaisseur à partir d'un bloc cylindrique stérile de tissus de 8mm de diamètre. Préparer 6 disques pour le test complet des trois boîtes (Inhibitor Test Agar pH 6,0, pH 7,2, et pH 8,0-respectivement DM276D, DM298D, et DM308D).
- Déposer à l'aide d'une pince stérile deux disques en position diamétralement opposée dans chacune des quatre boîtes.
- Déposer à l'aide d'une pince stérile le disque de contrôle approprié (pour le milieu MAST® Inhibitor Test Agar (pH 7,2) utiliser le disque de Sulfadimidine 0,5 µg). dans chacune des trois boîtes.
- Incuber les boîtes Inhibitor Test Agar MAST® (pH 7,2) à 30°C pendant 18 à 24 heures.

Interprétation des résultats

Après incubation, noter le diamètre des zones. Un résultat positif correspond à une inhibition totale de la croissance autour des deux disques d'échantillon de viande, avec une zone circulaire de plus de 2 mm de large. Le résultat est douteux pour un diamètre compris entre 1mm à 2mm.

Contrôle de qualité

Vérifier tous signes de détérioration. Le contrôle de qualité doit être effectué avec les disques de contrôle appropriés pour qu'il soit valide. Ne pas utiliser le produit si le résultat du disque de contrôle est incorrect. Le tableau ci-dessous donne la valeur attendue du disque antibiotique de contrôle à utiliser en routine. Ce disque antibiotique est disponible dans la gamme MASTDISCS™.

Agent antimicrobien et charge	Rayon de la zone d'inhibition
Sulfadimidine 0,5 µg (SD0,5)	>6 mm

Références

Bibliographie disponible sur demande.