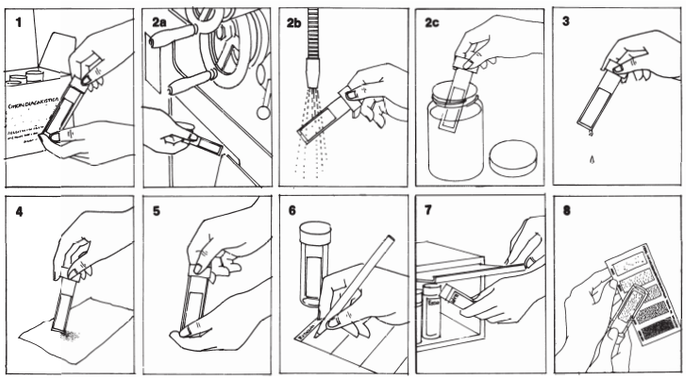
1.00778

Microbiologie

Cult-Dip combi

Mode d'emploi



1. Dévisser le couvercle et immerger la lame sans toucher les surfaces de la gélose.
2.
a) immerger la lame dans le liquide, ou
b) mouiller la lame en pulvérisant le liquide ou en la plaçant sous un jet de liquide. Si le liquide jaillit avec force, il faut opérer soigneusement de manière á ce que la gélose ne se détache pas du support, ou
c) mélanger l'échantillon dans un récipient et y tremper la lame.

Les deux surface de le gélose dolvent être complètement mouillées. La lame dolt être en contact avec le liquide à examiner environ 5–10 secondes.

3. Laisser s'écouler l'excès de liquide de la lame.
4. Absorber les gouttes restantes se trouvant sur les côtes de la lame en mettant en contact ceux-ci avec du papier filtre propre.
5. Revisser la lame dans le tube. Le tube doit être bien clos.
6. Remplir l'étiquette et la fixer au tube.
7. Placer le tube à l'étuve en position verticale á environ 27–30 °C. Après 24–48 heures d'incubation, le résultat peut être lu sur le côte de la gélose qui montre le nombre total de bactéries (TTC). Moisissures et levures se manifesteront sur la gélose glucosée à la pomme de terre mod. après une incubation d'environ 3 jours.
   Si on incube à température ambiante, les durées seront respectivement de 2–4 jours (TTC) et 4–7 jours (glucosée à la pomme de terre mod.).
8. Aprés incubation sortir la lame du tube. Comparer la densité des colonies se trouvant sur le milieu avec celle de la table de référence, sans compter les colonies. Si la température normale du liquide montre une différence substantielle avec la température d'incubation indiquée ci-dessus, ceci peut donner lieu à une croissance bactérienne plus lente; Il faut appliquer alors une température d'incubation correspondant à celle du fluide.

Dilution de l'échantillon

Si le contenu bactérien de l'échantillon est supérieur à 10^7 bact./ml, ou si a viscosité est élevée, il faut diluer l'échantillon.
Pour la dilution: Mettre 100 ou 1000 ml d'eau du robinet dans un flacon rincé, propre et sec, muni d'un bouchon. Avant d'employer l'eau, la laisser couler 5 minutes ou la bouillir 15 minutes et laisser refroidir. Se munir d'une pipette soit stérile, soit disposable et ajouter 1 ml de l'échantillon, fermer le flacon et mélanger en agitant (30 fois). Immerger la lame dans cette mixture et procéder ainsi que décrit en 1–8.
L'eau utilisée pour la dilution ne doit pas contenir plus de 100 bact/ml.
Vérifier à intervalles réguliers avec Cult-Dip combi gélose TTC.
Il faut tenir compte de la dilution dans l'évaluation des résultats:
Par exemple si 1 ml de l'échantillon ajouté à 100 ml d'eau montre après incubation 10^6 bactéries/ml, le résultat est en fait 10^8 bactéries/ml.

Interprétation des résultats

Pratiquement toutes les bactéries aérobies poussent sur la gélose TTC de Cult-Dip combi slide. Les moisissures et les levures poussent sur la gélose glucosée à la pomme de terre mod. (gélose orange).

Détermination du nombre total de bactéries (gélose incolore)

Beaucoup de bactéries donnent naissance à des colonies rouges. Le nombre de bactéries/ml est déterminé en comparant la densité des colonies se trouvant sur la lame avec celle de la table de référence; S'il y a des colonies incolores présentes, il faut également en tenir compte lors de l'estimation. Dans les cas où de grandes colonies apparaissent, il faut se souvenir que c'est la densité des colonies qui est importante, et non leur taille. Si le nombre de bactéries est élevé ($>10^7$ bact/ml) il y aura une croissance bactérienne confluente. Ceci peut se présenter comme une surface uniformément rouge: Il se peut que dans ce cas il y ait une fausse interprétation des résultats, et qu'il soit rendu un résultat faible ou négatif. Dans ces cas il faut comparer la lame incubée avec une lame non utilisée.
Il est difficile d'indiquer exactement à quel moment un fluide est sérieusement contaminé. Quand on a affaire à des eaux de refroidissements et autres fluides semblables on s'oriente d'aprés les résultats suivants:

Nombre de bactéries	10^4	Contamination légère
Nombre de bactéries	10^5–10^6	Contamination modérée
Nombre de bactéries	10^6 ou plus	Contamination importante

Détermination des levures et moisissures (gélose orange)

La croissance apparaissant sur a lame peut être soit composée de levures, soit de moisissures; Elle peut également être composée de colonies mixtes incluant moisissures et levures. Les moisissures forment des colonies molles et floconneuses, alors que les levures forment souvent des colonies rondes et bosselées.
Quelquefois, ces colonies peuvent aussi être plates et sèches. On compare ces croissances ainsi qu'on le fait pour les bactéries, mais avec la table de référence qui leur est propre. Etant donné que les colonies de moisissures peuvent être à l'origine de fragments de mycélium ou de spores individuelles, le résultat obtenu en comparant la croissance à la table de référence n'est pas quantitatif mais montre si l'infection est légère (+) modérée (++) ou forte (+++). Des colonies peuvent être prélevées sur la lame et examinées au microscope.
L'infection peut aussi être visible à l'œil nu, si le liquide est recouvert d'une sorte de pellicule à sa surface.

Destruction des lames utilisées

Les géloses incubées sont des cultures bactériennes, il faut donc les manipuler prudemment. Le meilleur moyen de les détruire est de les brûler, ou de les plonger pendait une nuit dans un désinfectant ou encore de les traiter à l'autoclave (A cet effet, on peut utiliser une cocotte minute).

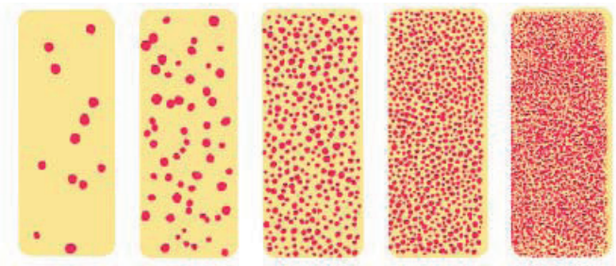
Conservation

Les tubes Cult-Dip combi ne doivent pas être ouverts et il faut les garder à température ambiante (20 °C) à l'abri de le lumière et des courants d'air. Voir la date d'expiration sur la boite.

Ne pas congeler.

On ne peut pas se servir d'une lame non ouverte montrant une croissance bactérienne: Il faut la rejeter.

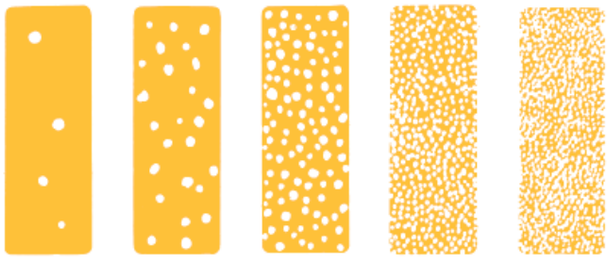
●●●●●●●●●●●●●●●● **(TTC-Agar)**
Bacteries



per ml 10^3 10^4 10^5 10^6 10^7

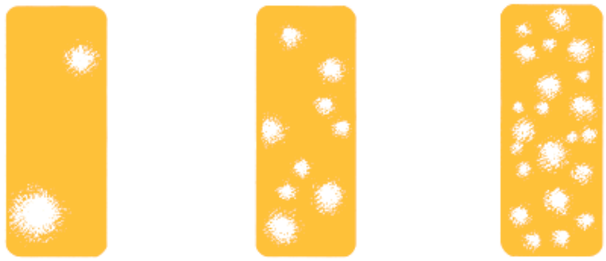
Gélose glucosée à la pomme de terre mod.

Levures



per ml 10^2 10^3 10^4 10^5 10^6

Moisissures



+ légere

++ modérée

+++ forte

Status: Décembre 2011

Merck KGaA, 64271 Darmstadt
Tel. +49 (0)6151 72-2440
www.merck-chemicals.com