

COLUMBIA AGAR + 5% DE SANG DE MOUTON

NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRECOULES PRETS A L'EMPLOI

1. Utilisation

La gélose Columbia + 5 % de sang de mouton est un milieu non sélectif utilisé pour la détection qualitative de bactéries fastidieuses et non fastidieuses dans des échantillons cliniques humains et d'autres échantillons. La gélose Columbia +5% Sang de mouton est le principal milieu utilisé pour les tests microbiologiques des infections causées par la plupart des agents pathogènes humains.

L'utilisation de la gélose Columbia +5 % de sang de mouton représente un support au diagnostic chez les patients présentant des symptômes indiquant des infections potentielles par divers micro-organismes pathogènes.

Les micro-organismes pathogènes humains appartiennent à divers groupes de bactéries qui provoquent des infections locales des tissus et des organes, ainsi que des infections systémiques. En raison de ses propriétés, le milieu est utilisé pour la détection de la plupart des micro-organismes pathogènes appartenant à différents groupes taxonomiques. Ces micro-organismes comprennent les cocci à Gram positif (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*), les bacilles à Gram négatif (Enterobacterales, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*), ainsi que les bacilles à Gram positif (*Corynebacterium*). La présence de sang dans le milieu permet de déterminer le type d'hémolyse, qui est utilisé dans l'identification préliminaire de certains groupes de micro-organismes, en particulier les membres du genre *Streptococcus*.

Code produit :	Type de milieu :	Présentation :
1190PD90	Boîte de milieu précoulé	2 x 10 boîtes (90 mm)

2. Principes de la procédure

Le milieu contient des hydrolysats de protéines qui permettent une croissance abondante et rapide des micro-organismes fastidieux. L'amidon de maïs est une source d'énergie qui stimule la croissance bactérienne, absorbe les composants toxiques présents dans les échantillons et améliore la réponse hémolytique de certains streptocoques. La peptone enrichie en levure est une source de vitamines B. La présence de sang de mouton est un facteur nécessaire à la croissance de nombreuses bactéries. Elle permet également de déterminer le type d'hémolyse et une identification préliminaire des bactéries présentes dans l'échantillon testé.

3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée:	Suppléments par litre de milieu :		
Digestion enzymatique de la caséine	5,0 g	Sang de mouton	50 mL
Digestion enzymatique de tissu animal	8,0 g		
Extrait de levure	10,0 g		
Agar	14,0 g		
Chlorure de sodium	5,0 g		
Amidon de maïs	1,0 g		

pH 7,3± 0,2 à 25°C.

Aspect du milieu – Homogène, rouge.

4. Préparation du milieu

Le milieu est prêt à l'emploi. Porter le milieu à température ambiante immédiatement avant utilisation.

5. Équipement requis, non fourni

Équipement de laboratoire standard nécessaire à la réalisation de tests microbiologiques, y compris un incubateur, ou un incubateur à atmosphère contrôlée.

6. Précautions

- Le produit est destiné à un usage professionnel uniquement.
- Produit non automatisé.
- Le milieu contient des composants d'origine animale, qui peuvent être associés à la présence d'agents pathogènes biologiques, et doit donc être manipulé conformément aux principes de manipulation des matières biologiques potentiellement infectieuses.
- Ne pas utiliser les boîtes de géloses si le milieu présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser les boîtes de géloses endommagées.
- Ne pas utiliser les boîtes de géloses hémolysées
- Ne pas utiliser les boîtes de géloses ayant dépassées la date de péremption.
- La ré-incubation de plaques précédemment inoculées n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats de test corrects, suivez ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans la présente notice, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

7. Stockage

Conserver les géloses à 2-12°C jusqu'à la date de péremption., dans leur emballage d'origine, en position inversée (côté gélose vers le haut), à l'abri des sources de lumière directe. Pour éviter la congélation de la gélose, ne pas stocker les géloses près des parois du réfrigérateur. Pour éviter l'apparition de condensation d'eau sur le couvercle des plaques, n'ouvrez pas le réfrigérateur plus souvent que nécessaire et ne conservez pas les géloses dans un réfrigérateur trop rempli.

8. Durée de conservation

Le milieu stocké à 2-12°C conserve ses propriétés jusqu'à 65 jours à compter de la date de production.

9. Type d'échantillon

Échantillons cliniques humains prélevés principalement sur les oreilles, les voies respiratoires supérieures, les voies génitales, ainsi que le pus et les fluides exsudatifs.

Prélever des échantillons pour les tests conformément aux directives en vigueur. Conserver les échantillons à tester jusqu'à leur livraison au laboratoire, conformément à la politique de conservation des échantillons du laboratoire. Conservez les échantillons d'urine et de selles dans un réfrigérateur. Les écouvillons, les aspirats les échantillons des voies respiratoires, ainsi que les fluides de pus et d'exsudat et les autres échantillons collectés pour les milieux de transport doivent être conservés à température ambiante, conformément aux recommandations du fabricant. Inoculez les échantillons dès que possible après la livraison du matériel au laboratoire..

10. Procédure du test

1. Laissez le milieu revenir à température ambiante avant l'inoculation.
2. Inoculer l'échantillon en l'étalant directement sur la surface de la gélose.
3. Si l'échantillon est recueilli sur un écouvillon - faire tourner doucement l'extrémité de l'écouvillon sur une petite surface de gélose juste aux bords de la plaque, puis prélever l'échantillon par la méthode de la plaque à stries en utilisant une anse stérile.
4. Incuber les plaques inoculées en conditions aérobies à 35°C ± 2°C.
5. Afin d'obtenir la croissance de bactéries ayant des exigences de croissance différentes, le milieu peut être incubé dans des conditions aérobies enrichies en CO₂ (5 - 10 %) pendant 18-24 ou jusqu'à 48 heures, selon le type d'échantillon à tester et le micro-organisme recherché.
6. Examiner le résultat de la croissance après 18-24 ou 48 heures d'incubation

11. Lecture et interprétation

Après incubation, observez :

- la présence d'une croissance de colonies bactériennes,
- la morphologie de la colonie,
- Les changements de couleur du milieu et la présence d'hémolyse.

Morphologie typique des colonies bactériennes cultivées sur gélose Columbia +5% de sang de Mouton :

Micro-organisme	Morphologie typique de la colonie	Présence et type d'hémolyse
Streptocoques du groupe A	Colonies transparentes ou semi-transparentes, d'environ 0,5 mm de diamètre, rondes, entièrement bordées avec une surface lisse	Une zone distincte d'hémolyse β autour de la colonie
Streptocoques du groupe B	Grandes colonies d'environ 1-2 mm de diamètre	Petite zone de β -hémolyse ou non hémolyse autour de la colonie
Groupe C et G bêta-Streptocoques hémolytiques	Morphologie des colonies similaire à celle du groupe A Streptocoques	Une zone distincte d'hémolyse β autour de la colonie
Streptocoques du groupe D	Colonies plus grandes que les autres groupes de streptocoques, légèrement opalescentes, grises à gris-blanc	Type d'hémolyse α ou pas d'hémolyse
Pneumocoques	Colonies de 0,5 à 1 mm de diamètre, rondes, entièrement bordées, muqueuses	Incubés sous CO ₂ Les conditions montrent une grande zone de Hémolyse de type α
Streptocoques de Viridans	Colonies de petites (de la taille d'une tête d'épingle) à des colonies égales ou plus grandes produites par les streptocoques du groupe A, généralement plus petites que les pneumocoques. Muqueux, semi-transparent ou brillant	Colonies entourées d'une petite zone d'hémolyse de type α ou sans hémolyse.
Staphylocoques	Grandes colonies jaunes ou blanches à grises	Hémolyse de type β ou absence d'hémolyse
Corynébactéries	Colonies petites à grandes, blanches à grises ou jaunes	Colonies, avec ou sans Zone d'hémolyse
Enterobacterales	Colonies grises moyennes à grandes	Colonies avec ou sans Zone d'hémolyse
<i>Candida</i> spp.	Petites colonies blanches	-

Pour l'identification définitive des micro-organismes cultivés, des tests supplémentaires et/ou des tests d'identification doivent être effectués à l'aide d'autres méthodes utilisées dans le laboratoire.



Morphologie des colonies et schéma de croissance des micro-organismes sur gélose Columbia +5% Sang de mouton

12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles du milieu doivent être vérifiées en utilisant des souches de référence donnant les réactions positives attendues. Le test doit être effectué en utilisant des cultures pures, de 18 à 24 heures, de souches de référence donnant les réactions souhaitées. Utiliser les souches de référence suivantes pour effectuer le contrôle de qualité du milieu :

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Colonies morphologie:	Type d'hémolyse :
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bonne croissance	grand, blanc à gris ou crème au jaune	β type
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Bonne croissance	petit, blanc à gris,	β type
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	Bonne croissance	très fin, plat, à bords entiers	α type
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bonne croissance	colonies grandes, plates, grises, lisse, brillant	Hémolyse possible de type β

D'autres souches de référence peuvent être utilisées conformément aux procédures et instructions du laboratoire. Les procédures de contrôle de la qualité doivent répondre aux exigences des réglementations et des directives/recommandations applicables.

13 Limites de la méthode

- En raison de la variabilité des besoins nutritionnels, certaines souches peuvent se développer faiblement ou pas du tout sur la gélose Columbia +5% de sang de mouton.
- Selon l'origine du sang utilisé, les streptocoques du groupe D peuvent présenter des réactions hémolytiques différentes. Sur les milieux contenant du sang de cheval, de lapin et d'homme, ils produisent une hémolyse de type β , alors que sur les milieux contenant du sang de mouton, ils produisent une hémolyse de type α .
- La réponse hémolytique des streptocoques β -hémolytiques peut être affectée par les conditions d'incubation. Il est recommandé d'incuber dans une atmosphère enrichie en CO₂ (5-10%) selon les procédures spécifiées par le laboratoire.
- Le milieu est caractérisé par une teneur relativement élevée en glucides, ce qui signifie que les streptocoques β -hémolytiques peuvent provoquer une hémolyse viridans, parfois interprétée à tort comme une hémolyse de type alpha.
- Le milieu ne contient pas de facteur V (nicotinamide adénine dinucléotide, NAD) car le sang de mouton contient de la NADase, qui détruit le NAD. C'est pourquoi *Haemophilus influenzae*, qui a besoin à la fois du facteur X et du facteur V pour se développer, ne se développera pas sur ce milieu.
- Les levures et les champignons peuvent se développer sur le substrat

14. Caractéristiques de la méthode

En 1966, Ellner et ses collaborateurs ont présenté un milieu multicomposant contenant du sang, qui, en raison de la présence d'hydrolysats de caséine et de peptones, a permis une croissance microbienne plus rapide et plus abondante, une réaction d'hémolyse plus forte et non ambiguë, et une morphologie de colonie plus typique avec une meilleure coloration. La gélose Columbia avec sang et vitamine K et hémine est un milieu universel utilisé pour l'isolement et la culture de tous les anaérobies et anaérobies facultatifs cliniquement pertinents. Ce milieu est recommandé pour la détection de bactéries moins courantes, comme *Bartonella bacilliformis*, responsable de la maladie de Carrión. Ce milieu est également utilisé pour déterminer le type d'hémolyse des micro-organismes, ce qui est important pour l'identification préliminaire de certains groupes de bactéries pathogènes, notamment celles du genre *Streptococcus*. Certains tests de diagnostic peuvent être effectués sur ce milieu. Cependant, afin d'identifier correctement les micro-organismes cultivés, des tests d'identification appropriés doivent être effectués en utilisant des cultures pures.

15. Élimination des matériaux usagés

Les matériaux utilisés et non utilisés doivent être éliminés conformément à la réglementation en vigueur sur les déchets médicaux et aux procédures de laboratoire relatives à l'élimination des matériaux infectieux et potentiellement infectieux.

16. Déclaration des événements indésirables

Selon la réglementation en vigueur, les événements et incidents indésirables qui peuvent être directement liés au milieu décrit doivent être notifiés au fabricant et aux autorités compétentes.

17. Références

1. MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, édité par Mauch, H., R. Lüttiken et S. Gatermann pour la Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Volumes 3, 6 et 7. Urban & Fischer, Munich, Allemagne.
2. Murray, P. R., E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller et R. H. Tenover (éd.). 2003 Manuel de microbiologie clinique, 8e éd. American Society for Microbiology, Washington, D.C..
3. Chapin, K.C., et T.-L. Lauderdale. 2003. Réactifs, taches et milieux. Dans : Murray, P. R., E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller et R. H. Tenover (éd.). Manuel de microbiologie clinique, 8e éd. American Society for Microbiology, Washington, D.C..
4. Isenberg, H. D. (éd.). 1992. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, Clinical microbiology procedures handbook, vol.1, p. 1.6.1-1.6.7. Société américaine de microbiologie, Washington, D.C..
5. Baron, E. J., L. R. Peterson et S. M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 9e éd., p. 415. Mosby - Year Book, Inc. St. Louis, MO.
6. MacFaddin, J. F. 1985 Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 86-92. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

Historique des modifications apportées aux documents

Date du changement	Section	Description du changement
2023/02/06	Document entier	Adaptation aux exigences de la réglementation EU 2017/746

NOTE

L'historique des révisions du document n'inclut pas les modifications rédactionnelles.

SYMBOLE	NOM DU SYMBOLE	DESCRIPTION	REF.
	Fabricant	Indique le fabricant du dispositif médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date après laquelle le dispositif médical ne doit plus être utilisé.	5.1.3
	N° de catalogue	Indique le numéro de catalogue du fabricant afin que le dispositif médical puisse être utilisé.	5.1.6
	Lot	Indique le code de lot du fabricant afin que le lot ou le lot de fabrication puisse être identifié.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un dispositif médical destiné à être utilisé comme dispositif médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un dispositif médical destiné à un usage unique.	5.4.2
	Contient suffisamment de tests <n>	Indique le nombre total de tests pouvant être effectués avec le dispositif médical.	5.5.5
	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle le dispositif médical ne doit plus être utilisé	5.1.4
	Limite de température	Indique que les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure.	5.3.7
	Symbole de sécurité (Respect des exigences de l'UE)	Le marquage CE sur un produit est une déclaration du fabricant attestant que le produit est conforme aux exigences essentielles des réglementations pertinentes de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement.	Nd.

	Consultez la notice d'utilisation ou consultez la notice d'utilisation électronique	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter la notice d'utilisation	5.4.3
	Stérilisé à l'aide de techniques de traitement aseptique	Indique un dispositif médical qui a été fabriqué à l'aide de techniques aseptiques acceptées.	5.2.2
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter la notice d'utilisation	Indique qu'un dispositif médical ne devrait pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur devrait consulter la notice d'utilisation pour obtenir des renseignements sur la dépendance.	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un dispositif médical qui contient des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale	5.4.8




Gras Zenon Sobiecki
Cercle 4A; 830 Starogard Gdanski
www.grasobiotech.pl

Département de production
Forêt 1, Owidz
83-211 Jabłowo


