

# GÉLOSE COLUMBIA ANC + 5% DE SANG DE MOUTON

## NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRECOULES PRÊTS A L'EMPLOI

### 1. Utilisation prévue

La gélose Columbia ANC +5% sang de mouton est un milieu sélectif utilisé pour la détection qualitative et l'isolement des cocci à Gram positif du genre *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* à partir d'échantillons cliniques humains et d'autres échantillons.

La fonction du milieu est de soutenir le diagnostic chez les patients présentant des symptômes d'infections potentielles, en particulier ceux survenant dans des endroits riches en flore bactérienne mixte, tels que l'appareil respiratoire, l'appareil reproducteur et l'abdomen.

De nombreuses espèces du genre *Streptococcus* jouent un rôle important en tant qu'agents pathogènes de l'homme et de l'animal ou font partie du microbiome de la cavité buccale et des voies respiratoires supérieures et gastro-intestinales des humains. Les espèces les plus souvent isolées à partir d'échantillons cliniques sont : *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* ainsi que certaines espèces de streptocoques alpha-hémolytiques. Ils sont responsables d'un large éventail d'infections, des infections invasives graves aux infections respiratoires ou aux infections de la peau et des tissus mous. *Streptococcus pneumoniae* est l'un des principaux agents de pneumonie et de méningite et *Streptococcus agalactiae* est responsable d'infections périnatales graves chez les nouveau-nés.

Le genre *Staphylococcus* comprend de nombreuses espèces, dont plus de la moitié sont associées à l'homme, constituant le microbiome humain mais pouvant également causer un certain nombre de maladies. Les staphylocoques, en particulier *Staphylococcus aureus*, peuvent provoquer des infections locales affectant presque tous les tissus et organes, ainsi que des infections généralisées, qui mettent souvent en jeu le pronostic vital. Les plus courants sont les furoncles, l'orge, l'impétigo, les abcès et l'ostéomyélite, l'arthrite septique, l'endocardite, la pneumonie et, moins fréquemment, la méningite. En outre, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* sont restés en tête de liste des micro-organismes causant des infections nosocomiales pendant des années.

Les espèces du genre *Enterococcus* sont des agents pathogènes opportunistes qui peuvent causer des infections en dehors de leur habitat physiologique, en particulier chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli. Ils peuvent causer des infections des voies urinaires, une bactériémie et une endocardite. Ils sont souvent isolés chez des patients atteints d'infections multi-microbiennes intra-abdominales. *Enterococcus faecalis* est plus susceptible de causer des infections abdominales et *Enterococcus faecium* provoque des infections des voies urinaires et des plaies.

Référence :	Type de milieu :	Emballage:
1191PD90	Boîte de gélose précoulée	2 x 10 boîtes (90 mm)

### 2. Principe de procédure

Le milieu contient des hydrolysats de protéines de grande valeur qui permettent une croissance abondante et rapide des micro-organismes ayant des besoins nutritionnels élevés. L'amidon de maïs est une source d'énergie qui stimule la croissance bactérienne, absorbe les composants toxiques présents dans l'échantillon testé et améliore la réponse hémolytique de certains streptocoques. L'extrait de levure est une source de vitamines B. L'ajout de sang de mouton fournit le facteur X nécessaire à la croissance de nombreuses bactéries, et permet de déterminer le type d'hémolyse, ainsi qu'une identification préliminaire des bactéries présentes dans l'échantillon testé.

L'acide nalidixique et la colistine sont des suppléments qui inhibent la croissance des bactéries à Gram négatif (*Enterobacterales* et *Pseudomonas* spp.) sans affecter la croissance des bactéries à Gram positif, c'est-à-dire les staphylocoques, les streptocoques, les entérocoques. La colistine endommage la membrane cellulaire des bactéries à Gram négatif, inhibant ainsi leur croissance, en particulier la croissance de *Pseudomonas* spp. L'acide nalidixique est un agent antibactérien, ayant un effet inhibiteur sur la croissance des bactéries à Gram négatif, qui bloque la réplication de l'ADN chez les bactéries à Gram négatif sensibles.

### 3. Composition moyenne

En g/l d'eau distillée:		Suppléments/litre de moyen:	
Hydrolysate de caséine	5,0 g	Sang de mouton	50 mL
Hydrolysate de tissu animal	8,0 g	Colistine	0,015 g
Extrait de levure	10,0 g	Acide nalidixique	0,01 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 : Rouge homogène

### 4. Préparation du milieu

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

### 5. Matériel nécessaire, non fourni

Équipement de laboratoire standard nécessaire pour effectuer des 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 le milieu si celui-ci présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser les boîtes endommagées.
- Ne pas utiliser les boîtes hémolysées
- Ne pas utiliser les boîtes après la date d'expiration.
- La ré incubation de boîte préalablement inoculée n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats de test corrects, suivre ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans le présent manuel, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

### 7. Stockage

Conserver les boîtes entre 2 et 12 °C jusqu'à la date de péremption. Conserver les boîtes 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 conserver les boîtes près des parois du réfrigérateur. Pour éviter l'apparition de condensation d'eau sur le couvercle de la boîte, ne pas ouvrir le réfrigérateur plus souvent que nécessaire et ne pas stocker les boîtes dans un réfrigérateur trop rempli.

### 8. Péremption

Le milieu conservé à une température comprise entre 2 et 12°C conserve ses propriétés jusqu'à 65 jours à compter de la date de production. .

### 9. Types d'échantillons

Prélever des échantillons à analyser conformément aux lignes directrices en vigueur. Conserver les échantillons à analyser jusqu'à leur livraison au laboratoire, conformément à la politique de conservation des échantillons du laboratoire. Conserver les échantillons d'urines et de selles au réfrigérateur. Les écouvillons, les aspirats, les échantillons prélevés dans les voies respiratoires, ainsi que les liquides de pus et d'exsudat et les autres échantillons collectés pour le milieu de transport doivent être conservés à température ambiante conformément aux recommandations du fabricant du milieu. Inoculer les échantillons dès que possible après la livraison du matériel au laboratoire.

## 10. Procédure du test

1. Laisser 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 sur les bords de la boîte, puis prélever l'échantillon par la méthode des stries à l'aide d'une anse stérile.
4. Incuber les boîtes inoculées dans des conditions aérobies à  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ .
5. Afin d'obtenir la croissance de bactéries ayant des exigences de croissance différentes, le milieu peut être incubé dans des conditions aérobies complétées par du  $\text{CO}_2$  (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, observer :

- la présence de colonies bactériennes,
- la morphologie des colonies,
- les changements de couleur du milieu et la présence d'hémolyse

Morphologie typique des colonies cultivées sur gélose Columbia ANC +5% de sang de mouton :

Micro-organisme	Morphologie typique des colonies	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 $\beta$ Autour de la colonie
Streptocoques du groupe B	Grandes colonies d'environ 1-2 mm de diamètre	Petite zone de $\beta$ -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 $\beta$ Autour de la colonie
Streptocoques du groupe D	Colonies plus grandes que celles des autres groupes de streptocoques, légèrement opalescentes, grises à gris-blanc	Hémolyse de type $\alpha$ ou pas d'hémolyse
Pneumocoques	Colonies de 0,5 à 1 mm de diamètre, rondes, entièrement bordées, muqueuses	Incubés sous $\text{CO}_2$ Les conditions montrent une grande zone de Hémolyse de type $\alpha$
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 $\alpha$ ou pas d'hémolyse.
Staphylocoques	Grandes colonies jaunes ou blanches à grises	Hémolyse de type $\beta$ ou absence d'hémolyse
Corynébactéries	Colonies petites à grandes, blanches à grises ou jaunes	Colonies, avec ou sans zone d'hémolyse

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



Morphologie des colonies et schéma de croissance des bactéries *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae* sur gélose Columbia ANC + 5% de sang de mouton

## 12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles du milieu doivent être vérifiées à l'aide de 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 :	Morphologie des colonies :	Type d'hémolyse :
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bonne croissance	grand, blanc à gris ou crème au jaune	Type $\beta$
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Bonne croissance	petit, blanc à gris,	Type $\beta$
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	Bonne croissance	très fin, plat, à bords entiers	Type $\alpha$
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Pas de croissance	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Pas de croissance	-	-

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 lignes directrices/recommandations applicables.

### 13. Limites de la méthode

- En raison de la variabilité des besoins en nutriments, certaines souches peuvent mal se développer ou pas du tout sur le milieu Columbia ANC Agar +5% de sang de mouton.
- Selon le sang utilisé, les streptocoques du groupe D peuvent présenter différentes réactions hémolytiques. Sur le sang de cheval, de lapin et humain, ils produisent une hémolyse de type  $\beta$ , sur le sang de mouton une hémolyse de type  $\alpha$ .
- La réaction hémolytique des streptocoques  $\beta$ -hémolytiques peut être affectée par les conditions d'incubation. Il est recommandé d'incuber dans des conditions d'augmentation du CO<sub>2</sub> (5-10%) selon les règles et procédures spécifiées par le laboratoire.
- Certaines bactéries à Gram négatif présentant une résistance au mélange d'antibiotiques dans le milieu et peuvent se développer.
- Les champignons peuvent se développer sur le substrat
- Le milieu est caractérisé par une teneur relativement élevée en glucides, ce qui signifie que les streptocoques  $\beta$  hémolytiques peuvent provoquer une hémolyse viridans, parfois interprétée à tort comme une hémolyse de type alpha.
- Certaines bactéries à Gram négatif telles que *Gardnerella vaginalis* et certaines bactéries *Bacteriodes* spp. peuvent très bien se développer sur gélose Columbia ANC +5% de sang de mouton.
- Certaines bactéries aérobies à Gram positif qui produisent des spores, comme *Bacillus*, peuvent être inhibées sur ce milieu

### 14. Caractéristiques de la méthode

En 1966, Ellner et ses collègues ont présenté un milieu multicomposant avec du sang, qui, grâce à l'hydrolysate de caséine et aux peptones, a permis d'obtenir une croissance microbienne plus rapide et plus abondante, une hémolyse plus forte et moins ambiguë et une morphologie de colonie plus typique avec une meilleure coloration.

La gélose Columbia avec du sang est le milieu de base auquel divers suppléments sont ajoutés pour augmenter sa sélectivité.

La gélose Columbia ANC +5% de sang de mouton est un milieu sélectif couramment utilisé pour l'isolement et la culture de micro-organismes à Gram positif cliniquement pertinents. Des cocci à Gram positif du genre *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* peuvent s'y développer, ainsi que des corynébactéries et d'autres cocci. La culture réalisée dans des conditions anaérobies permet d'obtenir la croissance de cocci anaérobies. Les antibiotiques dans le milieu inhibent la croissance de *Proteus*, *Klebsiella* et *Pseudomonas*.

Ce milieu est également utilisé pour déterminer le type d'hémolyse des micro-organismes, ce qui est important dans l'identification préliminaire de certains groupes de bactéries pathogènes, en particulier du genre *Streptococcus*. Certains tests de diagnostic peuvent être effectués sur ce milieu. Cependant, afin d'identifier correctement les micro-organismes en culture, des tests d'identification appropriés doivent être effectués à l'aide de cultures pures.

### 15. Élimination des matériaux usagés

Les matières usagées et non utilisées doivent être éliminées conformément à la réglementation en vigueur sur les déchets médicaux et aux procédures de laboratoire pour l'élimination des matières infectieuses et potentiellement infectieuses.

### 16. Déclaration des événements indésirables

Conformément à 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. Ellner, P. D., C. J. Stoessel, E. Drakeford, and F. Vasi. 1966. a new culture medium for medical bacteriology. Am. J. Clin. Pathol. 45:502-504.
2. Estevez, E. G. 1984. Bacteriological plate media: review of mechanisms of action. Lab. Med. 15:258- 262.
3. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. clinical microbiology procedures handbook, vol. 1 p. 1.61-1.67. American Society for Microbiology, Washington, D.C..
4. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9 th ed. Mosby-YearBook, Inc. St. Louis, MO.
5. Ruoff, K. L. 1995. Streptococcus, p. 299-305. in P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (eds.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C
6. MacFaddin, J. F. 1985 Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 86-92. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

7. Diffco & BBD Manual, Manual of Microbiology Culture Media, Second Edition, 2009

#### Historique des modifications apportées au document

<b>Date du changement</b>	<b>Section</b>	<b>Description du changement</b>
07/02/2023	Document entier	Adaptation aux exigences du règlement UE 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 de l'instrument médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date après laquelle l'instrument 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 puisse être identifié.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un instrument médical destiné à être utilisé comme instrument médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un instrument médical destiné à un usage unique.	5.4.2
	Contient suffisamment de tests <n>	Indique le nombre total de tests pouvant être effectués avec l'instrument médical.	5.5.5
	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle l'instrument 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.
	Consulter le mode d'emploi ou consultez le mode d'emploi électronique	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter le mode d'emploi.	5.4.3
	Stériliser à l'aide de techniques de traitement aseptique	Indique un instrument 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 le mode d'emploi	Indique qu'un instrument médical qui ne devrait pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur devrait consulter le mode d'emploi pour obtenir des renseignements sur la dépendance.	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un instrument médical qui contient des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale	5.4.8

**GRASO**<sup>®</sup>



Gras Zenon Sobiecki  
Cercle 4A; 830 Starogard Gdanski  
[www.grasobiotech.pl](http://www.grasobiotech.pl)

Département de production  
Forêt 1, Owidz  
83-211 Jabłowo

 IVD

 CE