

Principe

Milieu sélectif pour l'isolement de coques à Gram positif à partir d'échantillons cliniques.

Présentation

10 Bouteille préparée
Flacon 125 ml
avec: 90 ± 3 ml

Détails de l'emballage

1 boîte de 10 flacons de 125 ml. Bouchon injectable:
Bouchon intérieur à vis en plastique. L'utilisation
d'aiguilles pour seringues d'un diamètre supérieur à
0,8 mm n'est pas recommandée.

Durée de vie Conservation

12 mois 8-25 °C

Formule * en g/L

Composición (g/l):

Digeste pancréatique de caséine.....	10,000
Digeste peptique de viande.....	5,000
Digeste pancréatique de cœur.....	3,000
Extrait de levure.....	5,000
Chlorure de sodium	5,000
Almidón.....	1,000
Agar-agar.....	15,000
Sulfate de colistine.....	0,010
Acide nalidixique.....	0,015

Description

Description :

Ce milieu est une modification de la gélose Columbia au sang, à laquelle ont été ajoutés les agents antimicrobiens sélectifs sulfate de colistine et acide nalidixique. Ces antibiotiques inhibent la croissance des Enterobacteriaceae et des Pseudomonas.

Technique / utilisation recommandée :

Le milieu doit être fondu (100 °C) une seule fois, puis utilisé. Ne pas appliquer de chaleur directe pour le faire fondre et ne pas le refondre plusieurs fois. Refroidir à 45-50 °C. Ajouter aseptiquement 5 % de sang de mouton stérile défibriné. Bien mélanger avant de couler.

Ensemencer directement les échantillons à la surface de la gélose, par stries, afin d'obtenir des colonies isolées. Il convient également de réaliser quelques inoculations en profondeur afin de déposer les streptocoques bêta-hémolytiques dans le milieu, car cette croissance sous la surface permet la manifestation de l'activité des streptolysines stables et labiles à l'oxygène, donnant ainsi des réactions hémolytiques nettes.

Les boîtes sont incubées en atmosphère (aérobie, anaérobie ou enrichie à 5-10 % de CO₂) selon le protocole du laboratoire pour chaque type d'échantillon. Après incubation pendant 18 à 24 / 48 heures à 35 ± 2 °C, les boîtes sont examinées pour la croissance puis pour les réactions hémolytiques :

- Alpha-hémolyse (α) : réduction de l'hémoglobine en méthémoglobine dans le milieu entourant la colonie, produisant un halo vert.
- Bêta-hémolyse (β) : lyse totale des érythrocytes sanguins, produisant une zone claire autour de la colonie.
- Gamma-hémolyse (γ) : absence d'hémolyse, sans changement du milieu.
- Alpha-prime-hémolyse (α') : zone de lyse complète près de la colonie, entourée d'une zone de lyse partielle.

L'effet hémolytique des streptocoques dépend de nombreux facteurs. Ruoff (1995) a noté qu'une incubation en atmosphère enrichie en 5-10 % de CO₂ optimise l'action des streptocoques bêta-hémolytiques, et que certaines souches de streptocoques (groupe D de Lancefield) se comportent différemment selon l'origine animale du sang utilisé dans le milieu : dans une gélose au sang de cheval, humain ou lapin, l'action bêta-hémolytique se manifeste, tandis qu'avec le sang de mouton, l'action alpha-hémolytique est mieux observée.

Selon l'échantillon, les spécifications du laboratoire et les isolements attendus, il peut être nécessaire d'utiliser un sang d'origine animale différent, d'allonger le temps d'incubation, d'augmenter l'humidité ou la teneur en dioxyde de carbone dans l'atmosphère, etc.

Remarque : Les milieux solides peuvent être fondus de différentes manières : à l'autoclave, au bain-marie et, si le client le juge approprié, également au micro-ondes. Lorsque l'option micro-ondes est choisie, il est nécessaire de prendre certaines mesures de sécurité pour éviter la rupture des récipients, comme desserrer le bouchon à vis et placer le flacon ou le tube dans un bain d'eau dans le micro-ondes. La température et le temps de fusion dépendent de la forme du récipient, du volume de milieu et de la source de chaleur. Éviter la surchauffe ainsi que les temps de chauffage prolongés.

Contrôle qualité**Contrôle physico-chimique**

Couleur : Marronâtre

pH: 7.2 ± 0.2 at 25°C

Contrôle microbiologiqueEnsemencement en spirale: / Plaque pratique 100 ± 20 UFC. min. 50 UFC (productivité) / 10⁴-10⁶ UFC (sélectivité).

Addition préalable de 5% de sang de mouton défibriné

Méthodologie analytique selon ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Incubation microaérophilique à 35 ± 2 °C pendant 18-24h

Micro organismes*Streptococcus pyogenes* ATCC® 19615*Stph. aureus* ATCC® 25923, WDCM 00034*Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619*Proteus mirabilis* ATCC® 12453**Croissance**

Inhibé

Contrôle de la stérilité

Incubation 48 h à 30-35 °C et 48 h à 20-25 °C: PAS DE CROISSANCE.

Vérifier 7 jours après l'incubation dans les mêmes conditions.

Références

- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press. London.
- BARON, E.J., L.R. PETERSON & S.M. FINEGOLD (1994) Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed. Mosby-Year Book Inc. St Louis, MO. USA.
- CASMAN, E. (1947) A non-infusion blood agar base for neiseriae, pneumococci and streptococci. Am. J. Clin. Path. 17:281-289.
- ELLNER, P.D., C.J. STOESSEL, E. DRAKEFORD, & F. VASI (1966) A new culture medium for medical bacteriology. Amer.J.Clin.Path 45:502-504.
- ESTEVEZ, E.G. (1984) Bacteriological Plate Media: review of mechanisms of action. Lab. Med. 15:258-262.
- ISENBERG H.D. (1992). Clinical Microbiology Procedures Handbook. Vol 1 ASM Washington DC, USA.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- RUOFF, K.L. (1995) Streptococcus p. 299-305. En Manual of Clinical Microbiology 6th ed. Por Murray, Baron, Pfaller, Tenover y Yolker (editors) ASM. Washington DC. USA.