

## Columbia/Gélose

Gélose de base

356-4674 / 356-4678

Gélose de base + sang de mouton/cheval

356-3784 / 356-3804

Gélose de base + sang de mouton + ANC

356-3954

### DOMAINE D'APPLICATION

Milieu riche qui convient parfaitement à la culture des bactéries exigeantes, surtout lorsqu'il est additionné de sang. Il permet alors de mettre en évidence le pouvoir hémolytique de certaines bactéries.

### REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

#### MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

- **NF EN ISO 10272-1 (Avril 2006)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Campylobacter* spp. Partie 1 : méthode de recherche. (IC : V 08-026)
- **NF V08-405 (Décembre 1986)** : Microbiologie alimentaire - Conserves - Recherche de *Clostridium* thermophiles (IC : V08-405)

### PRINCIPE

La croissance de la plupart des bactéries est favorisée par les substances nutritives apportées par le mélange spécial de peptones. Le milieu est rendu sélectif par l'ajout éventuel d'acide nalidixique (ANC).

### PRESENTATION

- **Base**  
500 g **code 356-4674**  
5 kg **code 356-4678**
- **Base + sang de mouton**  
90 mm x 20 boîtes **code 356-3784**
- **Base + sang de cheval**  
90 mm x 20 boîtes **code 356-3804**
- **Base + sang de mouton + ANC**  
90 mm x 20 boîtes **code 356-3954**

### CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Pré-coulé : + 2 - 8°C
- Prêt à l'emploi : + 2 - 25°C
- Déshydraté : + 15 - 25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement

### FORMULE THEORIQUE

Mélange spécial de peptones	23 g
Amidon	1 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	10 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 7,3 ± 0,2	

### AUTRES PRODUITS NECESSAIRES

#### NON FOURNIS

- Eau distillée

### MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

#### (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Tubes à essais (16 x 160 mm) avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes stériles
- Bains-marie avec une précision de ± 1°C
- Etuves ou enceintes thermostatées avec une précision de ± 1°C
- Autoclave
- Jarre anaérobie
- Tout matériel courant d'un laboratoire

### PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

#### Toujours agiter avant chaque utilisation.

Dissoudre 39 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir jusqu'à dissolution complète. Répartir à raison de 15 ml par tube ou 100 ml par flacon et stériliser à l'autoclave à 121 ± 1°C pendant 15 minutes.

#### Taux de reconstitution : 39 g/l

500 grammes de poudre permettent de réaliser 12,8 litres de milieu.

### PROTOCOLE

#### • Gélose de Columbia

Mise en évidence du caractère anaérobie lors de la recherche des *Clostridium* thermophiles : faire fondre le milieu au bain-marie bouillant et couler en boîtes de Pétri.

Ensemencer en stries, la surface de quatre boîtes à partir d'une culture en milieu liquide.

Mettre deux boîtes en culture à 55 ± 1°C en aérobiose pendant 1 à 4 jours.

Mettre les deux autres boîtes en culture à 55 ± 1°C en anaérobiose pendant 1 à 4 jours.

## Columbia/Gélose

### • Gélose de base Columbia + sang frais

Cette préparation favorise la culture des cocci Gram positifs: notamment des streptocoques, dont *S. pneumoniae*.

Ce milieu permet de mettre en évidence le caractère hémolytique (absence hémolyse ou hémolyse).

A la gélose de base stérile, fondue puis refroidie à 44 - 47°C, ajouter 5 à 10 % de sang stérile (cheval ou mouton).

Agiter délicatement en évitant les bulles d'air dans la gélose.

Couler en boîtes de Pétri.

La gélose est rendue sélective pour les cocci Gram positifs par addition du mélange inhibiteur d'antibiotiques ANC (15 mg/l d'acide nalidixique + 10 g/l de colistine), la presque totalité des bactéries à Gram négatif et des *Bacillus* étant alors inhibés.

### PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24 h à 37°C avec 5% de sang stérile
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Bonne croissance Hémolyse β
<i>Streptococcus</i> groupe C CIP A7	Bonne croissance Hémolyse β
<i>Enterococcus faecalis</i> <i>var zymogenes</i> ATCC 29212	Bonne croissance Absence d'hémolyse
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Bonne croissance Hémolyse α verdissante
<i>Neisseria meningitidis</i> (+CO <sub>2</sub> ) ATCC 13090	Bonne croissance Absence d'hémolyse

### CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

### MOTS CLES

Columbia / Bactéries exigeantes / sang / ANC / Pouvoir hémolytique / Milieu.

### BIBLIOGRAPHIE

- **ELLNER D., STOESEL C.J., DRAKEFORD E. and VASI F. (1966):** A new medium for medical bacteriology. American Journal of Clinical pathology **45**: 502-504.
- **THAYER J.D., MARTIN J.E. (1966):** Improved medium selective for *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*. Public Health Report **81**: 559-562.