

Gélose au sang (Base)

356-4524

DOMAINE D'APPLICATION

Ce milieu enrichi de sang est un milieu qui permet l'isolement des bactéries exigeantes sans interférer avec leurs réactions d'hémolyse.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF EN ISO 11290-2/A1 (Février 2005)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* – Partie 2 : Méthode de dénombrement (IC : V08-028-2/A1).

• **NF EN ISO 11290-1/A1 (Février 2005)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Partie 1 : Méthode de recherche (IC : V 08-028-1/A1).

• **XP V 08-062 (Octobre 2000)** : Microbiologie des aliments - Méthode de dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Méthode de routine (IC : V08-062).

• **XP V 08-058 (Novembre 1995)** : Microbiologie des aliments - Dénombrement de *Bacillus cereus* par comptage des colonies à 30 °C - Méthode de routine (IC : V08-058).

• **Norme FIL 143A (1995)** : Lait et produits laitiers - Recherche de *Listeria monocytogenes*.

• Méthode de dénombrement de *Listeria monocytogenes* dans les produits végétaux ou d'origine végétale (BOCCRF du 30 Mai 1992 rectifié le 5 Septembre 1992).

PRINCIPE

La croissance de la plupart des bactéries est favorisée par les substances nutritives apportées par la peptone et l'extrait de levure.

PRESENTATION

- Déshydraté
500 g

code 356-4524

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Déshydraté : + 15 - 25 °C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.
- La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Peptone	15 g
Digestat de foie	2,5 g
Extrait de levure	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 7,2 ± 0,2	

AUTRES PRODUITS NECESSAIRES

NON FOURNIS

- Eau distillée
- Sang de cheval (**code 355-6641**)
- Sang de mouton (**code 355-6652**)

Voir Fiche(s) Technique(s) correspondante(s)

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

(liste non exhaustive)

- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes Pasteur stériles (**code 355-0751**) ou øse bouclée
- Étales stériles
- Bain-marie à 80 °C pour la gélose chocolat
- Bains-marie avec une précision de ± 1°C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1°C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire.

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation

Dissoudre 40 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Répartir à raison de 100 ml par flacon puis stériliser à l'autoclave à 121°C ± 1 °C pendant 15 minutes.

Taux de reconstitution : 40 g/l.

500 g de poudre permettent de réaliser 12,5 litres de milieu.

PROTOCOLE

• Ensemencement et incubation

Ce milieu est en général, utilisé pour la préparation d'une gélose au sang frais :

A 100 ml de base stérile, puis refroidie à 44 °C à 47 °C, ajouter 5 à 10 % de sang stérile de cheval ou de mouton.

Après agitation ménagée, en évitant les bulles d'air, le mélange est coulé en boîtes de Pétri.

Ensemencement par étalement en surface ou

1/2

Gélose au sang (Base)

par isolement et incubation à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $24 \text{ h} \pm 2$ heures.

Pour les isollements primaires de souches d'*Haemophilus* provenant de prélèvements contenant une flore associée, il est recommandé d'utiliser le sang de cheval.

Pour obtenir de meilleurs résultats, il est possible d'étaler 2 gouttes de saponine à 10 % sur la moitié de la surface de la gélose à ensemencer (Waterworth, 1955).

Ce milieu de base peut également servir à la préparation d'une gélose type "gélose chocolat" (gélose au sang cuit) :

Le sang stérile de cheval à 10 % est additionné à la base. Les flacons sont maintenus au bain-marie à 80°C pendant 10 à 15 minutes, sous agitation, jusqu'à obtention d'une teinte chocolat. Répartition en boîtes de Pétri. Après ensemencement par étalement en surface ou par isolement, les boîtes sont incubées à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 18 à 24 heures.

LECTURE ET INTERPRETATION

Sur cette gélose, les colonies des principales bactéries ont des tailles, couleurs et aspects caractéristiques.

Le type d'hémolyse est variable selon les souches.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Ne pas ajouter le sang dans un milieu de base à une température supérieure à 47°C .
- Respecter les Bonnes pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

MICRO-ORGANISMES	Culture des Micro-organismes En 24H à 37°C
<i>Streptococcus bovis</i> CIP 5623	Bonne croissance Pas d'hémolyse
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bonne croissance Hémolyse β
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Bonne croissance Pas d'hémolyse
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Bonne croissance Hémolyse β

MICRO-ORGANISMES (suite)	Culture des Micro-organismes En 24H à 37°C
<i>Streptococcus</i> groupe C CIP A7	Bonne croissance Hémolyse β
<i>Enterococcus faecalis</i> var <i>zymogenes</i> ATCC 29212	Bonne croissance Hémolyse β
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Bonne croissance Hémolyse α verdissante
<i>Neisseria meningitidis</i> (+CO ₂) ATCC 13090	Bonne croissance Pas 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

Base pour gélose au sang / Bactéries exigeantes / Sang / Isolement / Milieu.