

BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood, Improved II

APPLICATION

La **BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood, Improved II** est un milieu sélectif amélioré servant à l'isolement de microorganismes Gram-positifs issus de matières cliniques et non cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

En 1966, Ellner *et al.* a signalé le développement d'une préparation de gélose au sang désignée sous l'appellation « Columbia Agar ». ¹ Ce milieu, qui favorise l'apparition de colonies en plus grand nombre, permet une croissance plus luxuriante que les bases de gélose au sang comparables. Il est utilisé dans les environnements qui nécessitent des milieux contenant du sang et des préparations sélectives. Ellner *et al.* a découvert qu'un milieu contenant 10 mg de colistine et 15 mg d'acide nalidixique par litre dans une base de gélose Columbia enrichie de 5 % de sang de mouton favorise la croissance de staphylocoques, de streptocoques hémolytiques et d'entérocoques tout en inhibant la croissance de *Proteus*, *Klebsiella* et des espèces de *Pseudomonas*. ¹⁻³ Pendant les ans, la résistance des bactéries contre des antibiotiques a augmentée. Particulièrement, des bacilles Gram-négatifs ne sont pas inhibés suffisamment sur la gélose Columbia CNA avec 5% de sang de mouton. Pour maintenir la bonne sélectivité de ce milieu, une petite quantité d'aztréonam est incluse dans la gélose BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved. L'aztréonam est une monobactamine qui n'agit que contre la plupart des bactéries Gram négatives et est ineffective contre les organismes Gram positifs. ⁴⁻⁶ Dans la gélose **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II**, la concentration de l'acide nalidixique a été réduite à 5,5 mg/l afin d'améliorer la mise en évidence des cocci Gram positifs, en particulier des staphylocoques à partir d'échantillons cliniques.

La Columbia Agar constitue un milieu de base très nutritif. L'ajout d'agents antimicrobiens, de colistine, d'aztreonam et d'acide nalidixique rend le milieu sélectif pour les microorganismes Gram-positifs, en particulier les streptocoques et les staphylocoques. Le sang de mouton permet de détecter les réactions hémolytiques, particulièrement importantes dans le diagnostic présomptif des streptocoques. ^{2,3,7-9}

REACTIFS

BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood, Improved II

Formule* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	12,0 g	Gélose	13,5 g
Digestion peptique de tissu animal	5,0	Colistine	10,0 mg
Extrait de levure	3,0	Acide nalidixique	5,5
Extrait de bœuf	3,0	Aztreonam	3,0
Fécule de maïs	1,0	Sang de mouton défibriné	5 %
Chlorure de sodium	5,0	pH 7,3 ± 0,2	

*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performance imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement. 

Ne pas utiliser les boîtes de Pétri qui montrent des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou tout autre type de détérioration.

Consulter le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** » pour connaître les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques, ainsi que les méthodes d'élimination des produits utilisés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas congeler ni surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.

Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Inoculer le milieu avec les souches énumérées ci-dessous. (Pour plus d'informations, voir le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** »). Incuber à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 heures, en atmosphère aérobie enrichie en dioxyde de carbone.

Souches	Croissance
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Croissance bonne à importante, hémolyse bêta possible
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Croissance bonne à importante, hémolyse alpha
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Croissance bonne à importante, hémolyse bêta
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Croissance bonne à importante
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inhibition complète
Non inoculé	Rouge (couleur sang)

METHODE

Matériel fourni

BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood, Improved II (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produit soumis à contrôle microbiologique.

Matériel non fourni

Les milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Ce milieu sélectif universel destiné à l'isolement de nombreuses bactéries Gram-positives, en bactériologie aérobie, en particulier les streptocoques et les staphylocoques, est utilisable pour tous les types d'échantillons bactériologiques (voir également la section **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**).

Mode opératoire du test

Diluer l'échantillon par striation dès que possible après réception par le laboratoire. La boîte à striation sert principalement à isoler les cultures pures des échantillons contenant des flores mixtes. Si la matière doit être cultivée directement à partir d'un écouvillon, rouler ce dernier sur une petite surface de la boîte de Pétri près du bord, puis strier l'échantillon depuis cette zone inoculée. Pour détecter tous les agents pathogènes contenus dans l'échantillon, ce dernier doit aussi être strié sur un milieu non sélectif approprié, tel que la **BD Columbia Agar with 5 % Sheep Blood**, ou sur d'autres milieux sélectifs comme la **BD MacConkey II Agar**.⁷⁻¹⁰

Incuber **BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood, Improved II** à 35 ± 2 °C pendant 42 à 48 heures, en atmosphère aérobie enrichie en dioxyde de carbone, et observer les cultures après 18 à 24 heures, puis de nouveau après 24 heures.

Résultats

Généralement, les colonies présentent la morphologie suivante sur la **BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood, Improved II**:

Streptocoques (hors groupe D)	Petite taille, de couleur blanc-gris. Hémolyse bêta ou alpha.
Entérocoques (groupe D)	Petite taille, mais plus importante que les streptocoques de groupe A, couleur tirant sur le gris. Hémolyse alpha (rarement bêta).
Staphylocoques	Grande taille, de couleur blanche à grise ou crème à jaune, avec ou sans hémolyse
Corynebactéries*	Petite à grande taille, de couleur blanche à grise ou jaune, avec ou sans hémolyse

<i>Candida spp.</i>	Petite taille, couleur blanche
<i>Listeria monocytogenes</i>	Taille petite à moyenne, couleur tirant sur le gris, avec légère hémolyse bêta
Bactéries Gram-négatives	Croissance nulle ou traces de croissance

* Voir Limites de la Procédure

D'autres bactéries Gram-positives, non énumérées dans la liste ci-dessus, peuvent également se développer sur ce milieu (voir aussi la section **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**).

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood, Improved II** est un milieu amélioré servant à l'isolement et à la culture de nombreux microorganismes Gram-positifs développés en aérobie, par exemple les streptocoques, les staphylocoques, les coryneformes, les espèces de *Listeria*, etc. Le milieu est comparable avec la gélose Columbia CNA BD avec 5 % de sang de mouton, mais sa sélectivité contre des bactéries Gram négatives est mieux.

Caractéristiques de performances¹¹

Dans les évaluations internes des performances, la croissance de plus de 45 souches (isolats cliniques et souches de contrôle) de bactéries Gram positives appartenant aux espèces citées dans le tableau 1 a été testée sur gélose **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (=CNA-II) et comparée à celle sur gélose **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** (=CNA). Une gélose **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (=COL) a servi de milieu de référence pour la croissance. Les boîtes de Pétri ont été incubées dans une atmosphère aérobique enrichie en CO₂ pendant 18 à 24 heures.

Les souches de *Proteus* résistantes aux quinolones ont été complètement inhibées sur CNA-II mais ont donné une croissance très importante sur CNA et COL. De plus, une gamme variée d'autres bacilles Gram négatifs (*Klebsiella pneumoniae* productrices de bêta-lactamases à spectre étendu, *Enterobacter cloacae* et *Pseudomonas aeruginosa*) ont également été testés. Aucune de ces souches ne s'est développée sur CNA-II, mais certaines ont présenté une croissance légère à moyenne sur CNA et toutes ont donné une croissance très importante sur COL.

CNA-II a inhibé plus de bactéries Gram négatives que CNA, alors que l'isolement des bactéries Gram positives était identique sur les deux milieux sélectifs voire meilleur sur CNA-II.

De plus, plusieurs souches de *Staphylococcus aureus* qui présentaient une faible croissance sur CNA ont été testées sur CNA-II. Ces souches ont toutes donné une croissance acceptable à excellente sur CNA-II. Les tailles des colonies et les zones hémolytiques sur CNA-II étaient comparables à celles obtenues sur COL.

Table 1 : Liste des espèces examinées sur **BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood, Improved II** qui poussaient sur ce milieu

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus. milleri</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> **	<i>Streptococcus. mitis</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>Streptococcus group C</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus group F</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Streptococcus group G</i>
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> **	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

*Incubation pour 48 heures était nécessaire sur CNA-II et CNA

**Ce sont des espèces qui poussent mieux s'il sont incubées dans une atmosphère anaérobie ; incubation anaérobie pour 48 à 72 heures nécessaire sur CNA-II et CNA.

Aussi, plusieurs cocci anaérobies (*Peptostreptococcus* et genres parents) ont été examinés sur CNA-II et comparés avec CNA (incubation anaérobie pour 42 à 72 heures). Tandis que la plupart des souches poussait sur les deux milieux, quelques souches poussaient mieux sur CNA que sur CNA-II.

Limites de la Procédure

Les bactéries Gram-négatives qui résistent aux ingrédients sélectifs peuvent se développer dans ce milieu.

Les espèces de *Candida* et les autres champignons ne sont pas inhibés dans ce milieu.

Bien que ce soient des bactéries Gram-positives, les aérobies sporulés tels que les espèces de *Bacillus* peuvent être inhibés sur la **BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood** et sur la **BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood, Improved II**.

Certaines corynebactéries et certains microcoques ne se développeront que faiblement ou même pas du tout sur la gélose **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II**.

Ce milieu ne doit pas être utilisé pour l'isolement de bactéries strictement anaérobies. En lieu de ce milieu, utilisez la **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** ou **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**.

Le nombre et les types d'espèces bactériennes provenant d'agents infectieux sont très importants. Aussi, avant d'utiliser régulièrement ce milieu pour quantifier des microorganismes rarement isolés et récemment identifiés, il convient de tester ses capacités en produisant des cultures pures de l'organisme concerné.

Il est certes possible de procéder à divers tests diagnostiques directement dans ce milieu mais, pour obtenir une identification complète, il convient d'employer des tests biochimiques et, si nécessaire, immunologiques, faisant appel à des cultures pures.^{7,9}

La base Columbia Agar possède une teneur en glucide relativement élevée. Par conséquent, les streptocoques bêta-hémolytiques peuvent y produire une réaction hémolytique de couleur tirant sur le vert, susceptible d'être confondue avec une hémolyse alpha.

REFERENCES

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. MacFaddin, J. F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 269-275. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
3. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Wood, W., G. Harvey, E.S. Olson, and T.M. Reid. 1993. Aztreonam selective agar for Gram positive bacteria. *J. Clin. Pathol.* 46: 769-771.
5. Wiedemann, B., and B. A. Atkinson. 1986. Susceptibility to antibiotics: species incidence and trends. In: Lorian, V. (ed.), *Antibiotics in Laboratory medicine*, p. 962-1208. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
6. von Graevenitz, A. 1986. Use of antimicrobial agents as tools in epidemiology, identification, and selection of microorganisms. In: Lorian, V. (ed.), *Antibiotics in Laboratory medicine*, p. 723-738. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
7. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Ruoff, K.L., R.A. Whaley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, *Clinical microbiology procedures handbook*, vol.1, p. 1.6.1-1.6.7. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Data on file. 2004. Becton Dickinson GmbH, Heidelberg/Germany.

CONDITIONNEMENT

BD Columbia CNA Agar with 5 % Sheep Blood, Improved II

REF	257303	Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités
REF	257306	Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 120 unités

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD