

CHROMagar STEC

NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRECOULES PRETS A L'EMPLOI

1. Utilisation

La gélose CHROMagar STEC est un milieu chromogène sélectif utilisé pour la détection qualitative et l'isolement des bactéries *Escherichia coli* productrices de shiga toxines (STEC) dans les échantillons de selles humaines et d'autres échantillons.

La fonction du milieu CHROMagar STEC est d'aider au diagnostic chez les patients présentant des symptômes indiquant une infection potentielle causée par des souches productrices de vérotoxines d'*Escherichia coli*.

Les souches STEC d'*E. coli*, également connues sous le nom de souches vérotoxigènes, produisent des toxines à activité hémolytique qui entraînent la destruction des érythrocytes. La souche vérotoxigène la plus connue est *E. coli* O157, qui se présente sous la forme d'environ 60 sous-types, dont le plus connu est *E. coli* O157 : H7. D'autres sérotypes d'*E. coli* sont également inclus dans ce groupe, tels que O26, O91 et d'autres. Les souches vérotoxigènes d'*E. coli* comptent parmi les agents pathogènes humains les plus dangereux. Elles constituent l'agent étiologique de la colite hémorragique avec diarrhée aqueuse et sanglante et crampes abdominales douloureuses. Les conséquences de l'infection peuvent être un syndrome hémolytique urémique et une thrombose thrombocytopénique mettant en jeu le pronostic vital. La plupart des patients se rétablissent, mais certains d'entre eux développent une insuffisance rénale ou des troubles neurologiques à la suite de la maladie.

Référence	Type de milieu :	Emballage :
201381	Boîte de gélose précoulée	2x10 boîtes (90 mm)

2. Principe de la procédure

La peptone avec extrait de levure représente la source d'azote et de vitamines dans le milieu CHROMagar STEC. Le mélange chromogène permet de détecter et de différencier les bactéries *Escherichia coli* qui produisent la Shiga toxine (STEC). Les colonies d'*E. coli* STEC se colorent en rose violet. La différenciation des colonies d'*E. coli* STEC en souches de sérotype O157 et de non-sérotype O:157 est basée sur leur capacité de fluorescence sous une lumière UV de 365 nm - *E. coli* O157 n'a pas la capacité de fluorescence sur le milieu CHROMagar STEC, alors que les autres souches STEC peuvent avoir la capacité de fluorescence. Le supplément sélectif inhibe la croissance de la plupart des bactéries Gram-positives et Gram-négatives présentes dans l'échantillon testé.

3. Composition du substrat

En g/l d'eau distillée :		Suppléments/litre de milieu :	
Agar	15,0 g	Mélange sélectif	10 mL
Peptone et extrait de levure	8,0 g		
Sels	5,2 g		
Mélange chromogène	2,6 g		

pH 6,9± 0,2 à 25° C.

Aspect du milieu - Opalescent. Des précipités peuvent être présents, qui n'affectent pas la qualité du test et la lecture du résultat.

4. Préparation du milieu

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

5. Matériel nécessaire, non fourni

Matériel de laboratoire standard nécessaire à la réalisation de tests microbiologiques, y compris un incubateur.

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 de 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 après la date de péremption.
- La ré incubation de boîtes déjà ensemencées n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats corrects, suivre ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans ce 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 3 mois à compter de la date de production.

9. Type d'échantillon

Les échantillons à tester sont des échantillons de selles fraîches contenant du sang, des écouvillons rectaux. Placer l'échantillon dans un récipient stérile et hermétique muni d'un bouchon. Ne pas laisser les selles se dessécher. Si le patient est incapable d'aller à la selle, prélevez un échantillon par écouvillonnage rectal.

Les échantillons à analyser doivent être livrés au laboratoire dans les deux heures suivant le prélèvement. Si l'échantillon n'est pas livré au laboratoire dans ce délai, il doit être placé dans un milieu de transport Cary-Blair ou Amies et placé à la température du réfrigérateur. À la température du réfrigérateur, les échantillons dans le milieu de transport sont stables jusqu'à 2 jours.

10. Procédure de test

1. Le milieu doit être amené à température ambiante avant d'être utilisé.
2. Inoculer l'échantillon en l'étalant 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±2 °C.
5. Examiner la croissance sur les boîtes après 18-24 heures d'incubation.

11. Lecture et interprétation

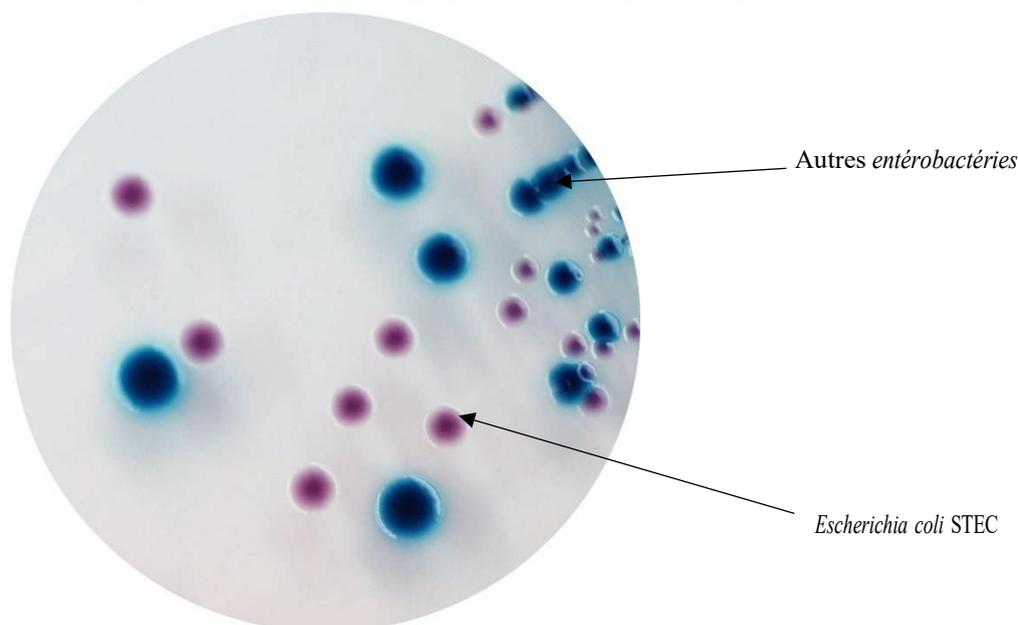
Après incubation, observer :

- La présence de colonies bactériennes,
- La morphologie de la colonie,
- La présence de fluorescence des colonies sous lumière UV

Morphologie typique des colonies se développant sur le milieu CHROMagar STEC :

Micro-organisme	Morphologie typique des colonies
STEC <i>Escherichia coli</i>	Colonies mauves
Autres <i>entérobactéries</i>	Colonies incolores, bleues ou absence de croissance
Bactéries Gram-positives	Pas de croissance
Fluorescence sous lumière UV (longueur d'onde 365 nm)	
STEC <i>Escherichia coli</i> O157	Pas de fluorescence sous lumière UV
STEC <i>Escherichia coli</i> no O157	+/- fluorescence

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



Morphologie des colonies et schéma de croissance d'*Escherichia coli* STEC sur le milieu CHROMagar STEC

12. Contrôle de la qualité

Les propriétés nutritionnelles et de sélectivité du milieu doivent être vérifiées à l'aide de souches de référence donnant les réactions positives et négatives attendues. Le test doit être effectué en utilisant des cultures propres et fraîches de souches de référence (de 18 à 24 heures) donnant les réactions souhaitées. Pour effectuer le contrôle de qualité du milieu, utiliser les souches de référence suivantes :

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie des colonies :
<i>Escherichia coli</i> O157 ATCC 700728	Bonne croissance	mauve
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Pas de croissance	-

D'autres souches de référence peuvent être utilisées conformément aux procédures et instructions de contrôle de la qualité 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 nutritionnels, certaines souches d'*Escherichia coli* STEC peuvent se développer faiblement ou pas du tout sur le milieu CHROMagar STEC.
- Certaines souches d'*Escherichia coli* qui ne produisent pas de Shiga toxine peuvent se développer sous forme de colonies mauves présentant ou non une fluorescence.
- De rares souches d'*E.coli* O157 sont fluorescentes positives.
- Les sérotypes avec tests d'agglutination peuvent être réalisés directement à partir de la colonie.

14. Caractéristiques de la méthode

Les laboratoires médicaux de routine sont le plus souvent en mesure de déterminer la présence de la seule souche d'*E.coli* la plus courante avec le sérotype courant O157. Ceci est dû à l'incapacité de cultiver les *E.coli* d'autres sérotypes sur des milieux microbiologiques. Le milieu CHROMagar STEC a une composition qui permet de détecter non seulement *E.coli* O157, mais aussi d'autres sérotypes d'*E.coli* vérotoxino-gènes.

Une étude a été menée sur l'efficacité du milieu CHROMagar STEC, c'est-à-dire sur sa sensibilité et sa spécificité. L'étude a été réalisée à partir de 142 échantillons de selles et d'autres échantillons rectaux. Les échantillons déposés sur le milieu CHROMagar STEC ont été incubés pendant une nuit à 37°C dans des conditions aérobies. Les résultats suivants ont été obtenus :

	CHROMagar STEC
Sensibilité	96% *
Spécificité	81% *

* - données obtenues dans l'étude "Performance comparison of CHROMagar™ STEC and the SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ assay using a panel of Shiga toxin Escherichia coli isolates". Lubeskie et al. Poster ECCMID 2016 de l'étude "Performance Comparison of CHROMagar™ STEC and the Shiga Toxin Quik Chek™ assay using a panel of Shiga Toxin Escherichia coli isolates" M. Lubeskie et Al. ECCMID 2016

15. Élimination des matériaux usagés

Les milieux usagés et non utilisés doivent être éliminés 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. Bavo Verhaegen, Koen De Reu 1, Marc Heyndrickx et Lieven De Zutter. 2015. Comparaison de six milieux gélosés chromogènes pour l'isolement d'une grande variété de sérogroupes d'Escherichia coli producteurs de shigatoxine (STEC) non O157.
2. A.M Hill, MT (ASCP) ; K.L. Walthall, M.S ; C.D. Doern, Ph D. ; B.A. Forbes, Ph.D VCU Medical Center. 2014. évaluation de trois tests ELISA ou de flux latéral et d'une gélose chromogène pour détecter les E.coli producteurs de la toxine shiga dans les selles.
3. K.E. Tan, B. Walker, L. Hoang, P. Kibsey Island Health, Victoria, BC, Canada. 2014. Deux étapes de Shiga-toxigenic Escherichia coli (STEC) avec des milieux chromogènes (CGM) et dosage immuno-enzymatique (EIA) à partir d'échantillons de selles humaines.
4. Brendon D.Parsons 1, Nathan Zelyas 2, Byron M.Berenger 2 et Linda Chui 1* 1 Médecine de laboratoire et pathologie, Université de l'Alberta, Edmonton, AB, Canada, 2 Microbiologie médicale et immunologie, Université de l'Alberta, Edmonton, AB, Canada. 2016 Détection, caractérisation et typage des Escherichia coli producteurs de Shiga Toxine.
5. Nathan Zelyas, Alan Poon, Laura Patterson-Fortin, Roger P.Johnson, Winki Lee, Linda Chui Alberta Provincial Laboratory for Public Health, Edmonton AB, Canad. 2016 Évaluation des milieux solides chromogènes commerciaux pour la détection des Escherichia coli producteurs de toxine Shiga non O157 (STEC).
6. ZACHARY R. STROMBERG, GENTRY L. LEWIS, AND RODNEY A. MOXLEY* - School of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, Nebraska 68583, USA, 2016 Comparison of Agar Media for Detection and Quantification of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in Cattle Feces.
7. M. Lubeskie, A. Pendergrass, J.T. Boone, R. Carman. TECHLAB, Inc, Blacksburg, Virginie Poster ECCMID 2016 Comparaison des performances de CHROMagar™ STEC et du test SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ à l'aide d'un panel d'isolats d'Escherichia coli à toxine Shiga.
8. Kalule et al. BMC Microbiology (2018) 18:55 Caractérisation des STEC et autres E. coli diarrhéiques isolés sur CHROMagar™ STEC dans un hôpital de référence tertiaire, au Cap.
9. Claire Jenkins, Neil T. Perry, Gauri Godbole, Saheer Gharbia Journal of Medical Microbiology Janvier 2020 Évaluation de la gélose sélective chromogène (CHROMagar STEC) pour la détection directe des Escherichia coli producteurs de toxine de Shiga dans les échantillons fécaux.
10. Claire Jenkins, Neil T. Perry, Gauri Godbole, Saheer Gharbia Journal of Medical Microbiology Janvier 2020 Évaluation de la gélose sélective chromogène (CHROMagar STEC) pour la détection directe des Escherichia coli producteurs de toxine de Shiga dans les échantillons fécaux.
11. Kalule et al. BMC Microbiology (2018) 18:55 Caractérisation des STEC et autres E. coli diarrhéiques isolés sur CHROMagar™ STEC dans un hôpital de référence tertiaire, au Cap.
12. M. Lubeskie, A. Pendergrass, J.T. Boone, R. Carman. TECHLAB, Inc, Blacksburg, Virginie Poster ECCMID 2016 Comparaison des performances de CHROMagar™ STEC et du test SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ à l'aide d'un panel d'isolats d'Escherichia coli à toxine Shiga.

Historique des modifications apportées au document

Date du changement	Section	Description du changement
29/04/2022	Document complet	Adaptation aux exigences du règlement (UE) 2017/746

NOTE**L'historique des révisions du document n'inclut pas les changements éditoriaux.**

SYMBOLE	NOM DU SYMBOLE	DESCRIPTION	REF.
	Fabricant	Indique le fabricant du dispositif médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date après laquelle le dispositif médical ne doit plus être utilisé.	5.1.3
	Numéro de catalogue	Indique le numéro de catalogue du fabricant afin que le Le dispositif médical peut être utilisé .	5.1.6
	Lot	Indique le code de lot du fabricant afin de permettre l'identification du lot.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un dispositif médical destiné à être utilisé comme dispositif médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un dispositif médical destiné à un usage unique.	5.4.2
	Suffisant pour <n> tests	Indique le nombre total de tests pouvant être effectués avec le dispositif médical.	5.5.5
	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle le dispositif médical ne doit pas être utilisé	5.1.4
	Limite de température	Les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure.	5.3.7
	Symbole de sécurité (conforme aux exigences de l'UE)	Le marquage CE apposé sur un produit est une déclaration du fabricant selon laquelle le produit est conforme aux exigences essentielles de la réglementation de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement.	nd.
	Consulter le mode d'emploi ou le mode d'emploi électronique	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter le mode d'emploi.	5.4.3
	Stérilisés à l'aide de techniques de traitement aseptiques	Indique un dispositif médical qui a été fabriqué en utilisant des techniques aseptiques reconnues.	5.2.2
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter le mode d'emploi.	Indique qu'un dispositif médical ne doit pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur doit consulter le mode d'emploi pour obtenir des informations sur la dépendance.	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un dispositif médical contenant des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale.	5.4.8



Graso Zenon Sobiecki
Krağ 4A ; 83-200 Starogard Gdański
www.grasobiotech.pl

Département de la production
Leśna 1, Owidz
83-211 Jabłowo

