

BRUCELLA + 5% SANG DE MOUTON + SUPPLÉMENTS

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

1. Utilisation

La gélose Brucella + 5% de sang de mouton + suppléments est un milieu non sélectif destiné à la détection qualitative et l'isolement des bactéries anaérobies et des bacilles du genre *Brucella* dans les échantillons cliniques humains et autres échantillons.

Ce milieu peut être utilisé pour déterminer les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des organismes anaérobies par la méthode ETEST.

Le milieu Brucella + 5% de sang de mouton + suppléments est utilisé pour le diagnostic des patients patients suspectés d'être infectés par des bactéries anaérobies.

Il est particulièrement utile pour diagnostiquer les infections situées dans des endroits riches en flore anaérobie, telles que les infections intra-abdominales, les infections gastro-intestinales, les infections de l'appareil reproducteur ou les infections de la peau et des tissus mous. Ce milieu peut être utilisé pour déterminer l'antibiothérapie en évaluant la CMI des antibiotiques.

Les anaérobies constituent un groupe important et diversifié de micro-organismes comprenant à la fois des bactéries Gram-positives et Gram-négatives avec différentes morphologies cellulaires. Elles constituent le principal composant du microbiome humain et habitent la cavité buccale, le tractus gastro-intestinal et les muqueuses de l'appareil génital. Leur présence dans le corps humain est essentielle, et des changements dans leur composition sont souvent associés à de nombreuses maladies d'origine infectieuse et non infectieuse.

Les anaérobies sont considérés comme des micro-organismes opportunistes. Beaucoup d'entre eux sont isolés à partir d'échantillons cliniques en tant qu'agents étiologiques de diverses infections. Ils sont sensibles et donc difficiles à détecter dans le cadre d'un diagnostic de routine. Toutefois, les progrès récents des techniques de diagnostic ont accru leur importance clinique, grâce à l'amélioration du taux de détection. Les *Brucella* sont des bactéries parasites hautement infectieuses qui se développent à l'intérieur des cellules animales et sont capables de survivre pendant de longues périodes dans l'environnement extérieur ainsi que dans les aliments. L'infection causée par ces bactéries est connue sous le nom de brucellose et classée parmi les maladies zoonotiques. La brucellose chez l'homme est rare et touche principalement les vétérinaires, les éleveurs et les transformateurs de viande.

Référence :	Type de milieu :	Emballage :
1043PD90	Boîte précoulée prête à l'emploi	2 x 10 pièces (90 mm)

2. Principe du milieu

Les peptones, le dextrose, l'extrait de levure et le sang contenus dans ce milieu favorisent la croissance des micro-organismes exigeants. Les peptones constituent une source d'azote organique. L'extrait de levure fournit des vitamines B. Le glucose est une source de carbone et d'énergie. Le bisulfate de sodium, la vitamine K et l'hémine stimulent la croissance des micro-organismes. L'ajout de sang augmente la valeur nutritionnelle du substrat.

3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée :		Suppléments/litre de milieu :	
Hydrolysate de la caséine	10,0 g	Sang de mouton	50,0 ml
Hydrolysate enzymatique de tissus animaux	10,0 g	Vitamine K	0,01 g
Extrait de levure	2,0 g	Hémine	0,005 g
Chlorure de sodium	5,0 g		
Bisulfite de sodium	0,1 g		
Glucose	1,0 g		
Agar	15,0 g		

pH 7.0± 0.2 à 25° C.

Aspect du milieu : Homogène, rouge.

4. Préparation du milieu

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

5. Matériel nécessaire, non fourni

Matériel de laboratoire standard nécessaire à la réalisation des tests (par exemple, sérum physiologique, écouvillons), y compris un densitomètre ou un étalon de densité et un incubateur ou un incubateur à atmosphère contrôlée.

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 d'agents biologiques pathogènes. Il doit donc être utilisé conformément aux principes de manipulation du matériel biologique potentiellement infectieux.
- Ne pas utiliser les boîtes de gélose si le milieu présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser les boîtes de gélose endommagées.
- Ne pas utiliser les boîtes de gélose ayant dépassées la date de péremption.
- La ré-incubation de boîtes de gélose précédemment inoculées n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats corrects, suivre ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans la présente notice, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

7. Stockage

Conserver les boîtes de gélose à une température comprise entre 2°C et 12°C jusqu'à la date de péremption, dans leur emballage d'origine, en position inversée (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 que nécessaire et ne pas conserver les boîtes dans un réfrigérateur trop rempli.

8. Péremption

Le milieu stocké à une température comprise entre 2°C-12°C conserve ses propriétés jusqu'à 45 jours à partir de la date de fabrication.

9. Type d'échantillon

Echantillons cliniques humains et autres échantillons.

Prélever les échantillons à analyser conformément aux lignes directrices en vigueur. Les conserver jusqu'à leur livraison au laboratoire conformément aux lignes directrices en vigueur pour le stockage et le transport de matériel biologique applicable au laboratoire. Conserver les écouvillons, les aspirats, le pus, les liquides sériques et les autres échantillons collectés pour le transport à température ambiante, conformément aux recommandations du fabricant. Inoculer l'échantillon dès que possible après la livraison du matériel au laboratoire.

Dans le cas de la détermination de la CMI, le matériel de test est constitué de cultures pures (âgées d'environ 16 à 24 heures) de souches isolées à partir d'échantillons cliniques humains inoculées dans un milieu solide.

10. Procédure de test

I. Inoculation

1. Laisser le milieu revenir à température ambiante avant l'inoculation.
2. Inoculer l'échantillon en l'étalant directement sur la surface de la gélose. Si l'échantillon est recueilli sur un écouvillon, faire tourner doucement l'extrémité de l'écouvillon sur une petite surface de gélose juste autour des bords de la boîte, puis inoculer l'échantillon en utilisant la méthode des stries à l'aide d'une anse stérile.
3. Incuber les boîtes inoculées avec le couvercle vers le bas à 35 ±2°C.
4. Vérifier la croissance après 18-24 heures d'incubation.

II. Détermination de la CMI

Pour garantir des résultats de CMI corrects et fiables, les procédures et directives en vigueur de l'Institut des Normes Cliniques et de Laboratoire (CLSI) doivent être strictement respectées.

11. Lecture et interprétation

I Après incubation, observer :

- la présence de colonies bactériennes,
- la morphologie des colonies,
- des changements de couleur du milieu,
- le type d'hémolyse.

Les morphologie typiques des colonies bactériennes cultivées sur le milieu Brucella + 5% de sang de mouton + suppléments :

Micro-organisme	Morphologie typique des colonies/ présence et type d'hémolyse
<i>Bacteroides fragilis</i>	Petites colonies rondes de couleur blanche grisâtre
<i>Clostridium perfringens</i>	Colonies larges, plates, blanches grisâtre, à bords irréguliers, hémolyse de type bêta.

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



Morphologie des colonies et schéma de croissance des micro-organismes sur milieu gélose Brucella + 5% sang de mouton + suppléments

II. Détermination de la CMI

Après incubation, interpréter le résultat conformément aux recommandations en vigueur du CLSI.

12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles 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 pures, de 18 à 24 heures, de souches de référence donnant les réactions souhaitées. Utiliser les souches de référence suivantes pour effectuer le contrôle qualité du milieu:

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie des colonies :	Type d'hémolyse :
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Bonne croissance	Petite, blanche grisâtre, ronde	-
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Bonne croissance	Grande, plate, blanche grisâtre, avec des bords irréguliers	Type β

D'autres souches de référence peuvent être utilisées conformément aux procédures et aux notices du laboratoire. Les procédures de contrôle qualité doivent répondre aux exigences des réglementations et des lignes directrices/recommandations en vigueur.

II. Détermination de la CMI

Effectuer fréquemment des contrôles de qualité du milieu, conformément aux lignes directrices en vigueur de la CLSI et aux procédures de laboratoire.

Les souches de référence utilisées pour le contrôle qualité doivent être conformes aux lignes directrices du CLSI.

13. Limites de la méthode

En raison de la variabilité de la valeur nutritionnelle du milieu, certaines souches peuvent se développer faiblement ou pas du tout sur le milieu Brucella + 5% de sang de mouton + suppléments.

14. Caractéristiques de la méthode

Le diagnostic des infections par des bactéries anaérobies ou des bactéries exigeantes peut présenter quelques difficultés. Il nécessite non seulement des conditions de culture différentes, mais aussi des milieux enrichis, aussi bien au stade de l'isolement que lors de la détermination de la sensibilité aux médicaments. L'un des milieux qui facilitent l'identification de ces micro-organismes est la gélose Brucella + 5 % de sang de mouton + suppléments.

En 2002, Roe et ses collaborateurs ont publié dans la revue *Clinical Infection Diseases*, un article décrivant une étude comparative concernant cinq milieux pour leur capacité à isoler les bactéries anaérobies. Dans cette étude, la croissance de 30 bactéries anaérobies exigeantes a été analysée en utilisant les milieux suivants : Wilkins-Chalgren, Wilkins-Chalgren avec du sang de mouton entier ou défibriné, la gélose Brucella avec vitamine K et hémine, et le sang de mouton entier ou défibriné. Les milieux ont été comparés en terme de qualité et de quantité de croissance bactérienne. L'étude a montré que la gélose Brucella supplémentée en vitamine K et en hémine, ainsi que le sang total et défibriné, étaient supérieurs au milieu standard de Wilkins-Chalgren ou à une variante contenant des cellules sanguines ajoutées. Parallèlement, il a été constaté que les milieux contenant du sang total donnaient les mêmes résultats que les milieux complétés par des cellules de sang de mouton défibriné. Les mêmes auteurs ont également mené une étude sur l'utilisation de différents milieux pour déterminer la sensibilité aux médicaments des bactéries anaérobies. Trois milieux ont été testés : Wilkins-Chalgren, la gélose Brucella avec du sang et gélose Wilkins-Chalgren avec du sang. Six antibiotiques ont été analysés : clindamycine, céfoxitine, ceftizoxime, piperacilline, métronidazole et trovafloxacin. Les résultats ont été comparés à la méthode de dilution en gélose de référence selon la CLSI. Les résultats indiquent que l'utilisation de l'un des milieux testés pour déterminer la sensibilité aux médicaments des bactéries anaérobies est en corrélation avec la méthode de référence (coefficient de corrélation >0,80, taux d'erreur 0,1 %).

15. Élimination des matériaux usagés

Les milieux utilisés et non utilisés doivent être éliminés conformément aux réglementations en vigueur en matière de traitement des déchets médicaux et aux procédures de laboratoire relatives à l'élimination des matériaux infectieux et potentiellement infectieux.

16. Déclaration des événements indésirables

Conformément à la réglementation en vigueur, les événements et les incidents indésirables qui peuvent être directement liés au milieu décrit doivent être notifiés au fabricant et aux autorités compétentes.

17. Références

- 1 BARON EJ. and FINEGOLD SM. - Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology - 8th ed - Mosby Co, 1990.
- 2 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty First Informational Supplement - CLSI M100-S21, Third edition, Jan. 2011, ISBN 1-56238-742-1.
3. Roe D.E., Finegold S.M., Citron D.M., Goldstain E.J.C., Wexler H.M., Rosenblatt J.E., Cox M.E., Jenkins S.G., Hecht D.W., Multilaboratory comparison of growth characteristics for anaerobes, using 5 different agar media, Clin. Infect. Dis., Sep 2002, S36-9
- 4 Roe D.E., Finegold S.M., Citron D.M., Goldstain E.J.C., Wexler H.M., Rosenblatt J.E., Cox M.E., Jenkins S.G., Hecht D.W., Multilaboratory comparison of anaerobe susceptibility results using 3 different agar media, Clin. Infect. Dis., Sep 2002, S40-6

Historique des modifications apportées au document

Date du changement	Section	Description du changement
2023/02/01	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 à laquelle le dispositif médical a été fabriqué.	5.1.3
	Numéro de catalogue	Indique le numéro de catalogue du fabricant afin que le dispositif médical puisse 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
	Suffisantes pour <n> tests	Indique le nombre total de tests qui peuvent 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 (Conformité avec les 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.
	Consultez la notice d'utilisation	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter la notice d'utilisation	5.4.3
	Stérilisé 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 la notice d'utilisation	Indique qu'un dispositif médical ne doit pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur doit consulter la notice d'utilisation 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
Krag 4A ; 83200 Starogard Gdański
www.grasobiotech.pl

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

