

GÉLOSE SALMONELLA SHIGELLA

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

1. Utilisation prévue

La gélose *Salmonella Shigella* est un milieu sélectif utilisé pour la détection qualitative et à l'isolement des entérobactéries à Gram négatif, en particulier *Salmonella* et *Shigella*, à partir d'échantillons cliniques humains, en particulier des échantillons fécaux, et d'autres matières.

La gélose *Salmonella Shigella* est conçue pour être utilisée dans les tests appuyant le diagnostic de patients présentant des symptômes indiquant une infection potentielle par des agents pathogènes entériques à Gram négatif, en particulier ceux des genres *Shigella* et *Salmonella*.

Les bacilles *Salmonella* sont parmi les agents étiologiques les plus courants de l'intoxication alimentaire. La pathogénicité de ces microorganismes varie d'un sérotype à l'autre et peut varier au sein d'une même sous-espèce. Certains sérotypes sont responsables de maladies invasives, mais il y a aussi ceux qui causent une intoxication alimentaire spontanément résolutive. Les sérotypes les plus isolés de l'espèce *Salmonella enterica subsp.* sont *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Hadar* ou *S. Infantis*.

Le genre *Shigella* comprend quatre espèces : *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* et *S. sonnei*. Toutes les espèces sont des agents pathogènes obligatoires et causent la dysenterie bactérienne.

Référence :	Type de milieu :	Emballage:
1250PD90	Boîte de gélose précoulée	2 x 10 boîtes (90 mm)

2. Principe de procédure

La présence de sels biliaries, de vert de malachite et de citrate de sodium inhibe la croissance des micro-organismes Gram positif et des entérobactéries autres que *Salmonella* et *Shigella*. L'ajout de lactose permet de différencier les entérobactéries. Les bactéries fermentant le lactose produisent de l'acide et forment des colonies de couleur rouge, l'indicateur de pH du milieu étant rouge neutre. En revanche, les micro-organismes ne fermentant pas le lactose forment des colonies incolores. Le citrate ferrique est un indicateur de la production de sulfure d'hydrogène. Les salmonelles produisent de la thiosulfate réductase, qui libère des molécules de sulfure présentes dans le thiosulfate de sodium. Ces molécules se combinent avec des ions hydrogène pour former du H₂S, qui réagit avec le citrate d'ammonium ferrique. Cette réaction entraîne la formation de précipités, visibles sous forme de taches noires au centre des colonies bactériennes..

3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée:	
Extrait de bœuf	5,0 g
Hydrolysat de tissu animal	2,5 g
Hydrolysat de caséine	2,5 g
Lactose	10,0 g
Citrate de sodium	8,5 g
Sels biliaries	8,5 g
Thiosulfate de sodium	8,5 g
Vert brillant	0,00033 g
Citrate ferrique	1,0 g
Agar	13,5 g
Rouge neutre	0,025 g

pH 7,0± 0,2 à 25C.°

Apparence du milieu – Clair, saumon.

4. Préparation du milieu

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

5. Équipement nécessaire, non fourni

Équipement de laboratoire standard nécessaire pour effectuer des tests microbiologiques, y compris 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 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 d'expiration.
- La ré incubation de boîte préalablement inoculée n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats de test corrects, suivre ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans le présent 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'échantillons

Les échantillons à analyser sont des échantillons de selles fraîches contenant des filaments de sang ou de mucus, des écouvillonnages rectaux, ainsi que d'autres échantillons cliniques. Placez les échantillons de selles dans un récipient hermétique et stérile muni d'un bouchon à vis. Ne laissez pas les échantillons sécher. Si le patient n'est pas en mesure d'évacuer ses selles, prélevez un échantillon par écouvillonnage rectal.

Livrer les échantillons à analyser au laboratoire dans les 2 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 réfrigéré. À température du réfrigérateur, les échantillons placés dans le milieu de transport sont stables jusqu'à 2 jours.

10. Procédure du test

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.
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 $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
5. Examiner le résultat de la croissance après 18-24 heures d'incubation.
6. Il est recommandé de procéder à un ensemencement supplémentaire sur un autre milieu gélosé moins sélectif (tel que la gélose MacConkey + Crystal Violet). Cela permet de cultiver une quantité supplémentaire de micro-organismes Gram-négatifs si leur nombre dans l'échantillon est insuffisant.

11. Lecture et interprétation

Après incubation, observer:

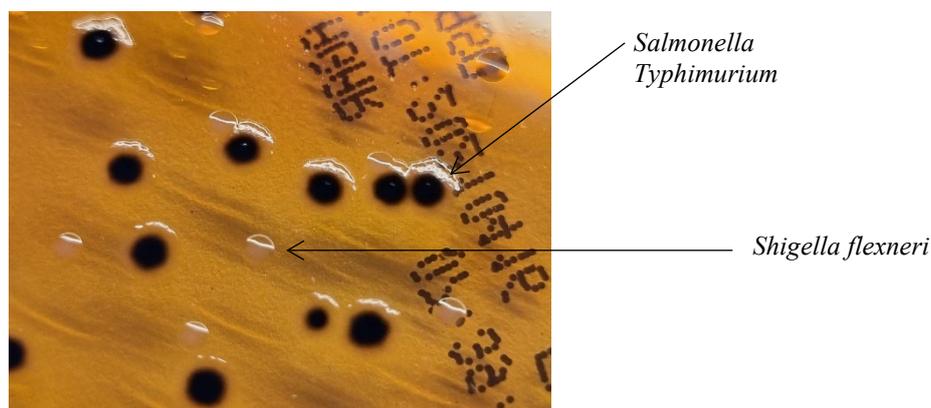
- la présence de colonies bactériennes,

- morphologie des colonies,
- coloration de la colonie.

Morphologie typique des colonies cultivées sur gélose *Salmonella Shigella* :

Micro-organisme	Morphologie typique de la colonie/couleur du milieu
<i>Escherichia coli</i>	Faible croissance des colonies roses à rouges
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Faible croissance, colonies roses
<i>Proteus</i>	Colonies incolores avec un centre noir
<i>Salmonelle</i>	Colonies incolores, généralement avec un centre noir
<i>Shigella</i>	Colonies incolores
<i>Pseudomonas</i>	Faible croissance, colonies irrégulières
Bactéries à Gram positif	Pas de croissance

Pour l'identification définitive des micro-organismes en culture, 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 de *Salmonella* et *Shigella* sur gélose *Salmonella Shigella*

12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles et la 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 donnant les réactions souhaitées. Utiliser les souches de référence suivantes pour effectuer le contrôle de qualité du milieu :

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie des colonies :
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Bonne croissance	Colonies incolores avec un centre noir
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Bonne croissance	Incolore
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Croissance faible ou pas de croissance	Colonies roses à rouges
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Pas de croissance	-

D'autres souches de référence peuvent être utilisées conformément aux procédures et instructions 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 en nutriments, certaines souches peuvent mal se développer ou pas du tout sur le milieu *Salmonella Shigella*.
- Les colonies de *Proteus spp.* peuvent ressembler à *Salmonella* en apparence, de sorte que des tests de confirmation supplémentaires sont recommandés.
- Certaines souches de bactéries *Salmonella* et *Shigella* fermentant le lactose peuvent former des colonies de type coliforme sur le milieu.

14. Caractéristiques de la méthode

L'identification de l'agent étiologique de la diarrhée infectieuse est importante non seulement pour le processus de diagnostic et la détermination du traitement adéquat, mais aussi pour des raisons épidémiologiques. Dans de nombreux cas, le traitement de ce type d'infection est conservateur et consiste en une supplémentation en électrolytes et une réhydratation, mais du point de vue épidémiologique, il est très important de trouver l'agent étiologique, car il aide à identifier les porteurs et à prévenir la propagation de l'infection.

Il existe de nombreux milieux disponibles dans le commerce conçus pour isoler les *Enterobacteriaceae*, y compris *Salmonella et Shigella*, de valeur diagnostique variable. L'un de ces milieux est la gélose *Salmonella Shigella*.

Ruiz J. et al. ont publié les résultats d'une étude dans Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. qui a évalué la capacité de six milieux de culture différents à isoler des entérobactéries à partir d'échantillons fécaux (*Rambach Agar*, *Salmonella Shigella Agar*, *Novobiocin-verte brillante-glycérol-lactose NBGL*, milieu semi-solide modifié de *Rappaport-Vassiliadis MSRV et Salmonella Detection et Identification-2 SM2*). 500 échantillons fécaux humains ont été testés. 81 échantillons étaient positifs pour *Salmonella* sur au moins un milieu de culture. Sur la base des résultats de l'étude, la spécificité de la gélose *Salmonella Shigella* a été fixée à 99,3 % et sa sensibilité à 69,1 %.

Des études similaires ont été menées par les mêmes auteurs, analysant cinq milieux : *Salmonella Shigella Agar*, Hektoen Enteric Agar, Bismuth Sulfite Agar, *Novobiocin-brilliant green-glycerol-lactose NBGL*, et *Salmonella*

Détection et identification-2 SM2. 1000 échantillons fécaux ont été analysés. Chaque échantillon a été inoculé deux fois. D'une part, en appliquant le matériau directement sur un milieu solide et d'autre part, sur un bouillon d'enrichissement en sélénite F. Sur milieu solide, des cultures positives ont été obtenues pour 74 échantillons. La sensibilité à la gélose à *Salmonella Shigella* était de 64,9 % et la valeur prédictive positive était de 18,7 %. Après enrichissement en bouillon de sélénite F, 88 échantillons positifs ont été obtenus. La sensibilité pour *Salmonella*, la gélose *Shigella* était de 92% et la valeur prédictive positive était de 17%.

15. Élimination des matériaux usagés

Les matières usagées et non utilisées doivent être éliminées 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. Bopp, C. A., F. W. Brenner, P. I. Fields, J. G. Wells, and N. A. Stockbrine. 2003. *Escherichia, Shigella, and Salmonella*. 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.
2. MacFaddin, J.F. 1985. *Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria*. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London.
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. Ruiz J., Nunez M.L., Lorente I., Perez J., Simarro E., Gomez J., Performance of six culture media for isolation of *Salmonella* species from stool samples, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1996, Dec, 922-6
5. Ruiz J., Nunez M.L., Lorente I., Perez J., Gomez J., Comparison of five plating media for isolation of *Salmonella* species from human stools, J. Clin. Microbiol., 1996, Mar, 686-8

Historique des modifications apportées aux documents

Date du changement	Section	Description du changement
16/03/2023	Document entier	Adaptation aux exigences du règlement UE 2017/746

NOTE**L'historique des révisions du document n'inclut pas les modifications rédactionnelles.**

SYMBOLE	NOM DU SYMBOLE	DESCRIPTION	REF.
	Fabricant	Indique le fabricant de l'instrument médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date après laquelle l'instrument médical ne doit plus être utilisé.	5.1.3
	N° 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 que le lot ou le lot puisse être identifié.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un instrument médical destiné à être utilisé comme instrument médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un instrument médical destiné à un usage unique.	5.4.2
	Contient suffisamment de tests <n>	Indique le nombre total de tests pouvant être effectués avec l'instrument médical.	5.5.5
	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle l'instrument médical ne doit plus être utilisé	5.1.4
	Limite de température	Indique que les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure.	5.3.7
	Symbole de sécurité (Respect des exigences de l'UE)	Le marquage CE sur un produit est une déclaration du fabricant attestant que le produit est conforme aux exigences essentielles des réglementations pertinentes de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement.	Nd.
	Consulter le mode d'emploi ou consultez le mode d'emploi électronique	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter le mode d'emploi.	5.4.3
	Stériliser à l'aide de techniques de traitement aseptique	Indique un instrument médical qui a été fabriqué à l'aide de techniques aseptiques acceptées.	5.2.2
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter le mode d'emploi	Indique qu'un instrument médical qui ne devrait pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur devrait consulter le mode d'emploi pour obtenir des renseignements sur la dépendance.	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un instrument médical qui contient des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale	5.4.8




Gras Zenon Sobiecki
Cercle 4A; 830 Starogard Gdanski
www.grasobiotech.pl

Département de production
Forêt 1, Owidz
83-211 Jabłowo