

GÉLOSE CHOCOLAT *HAEMOPHILUS*

NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRÉCOULÉS PRÊT À L'EMPLOI

1. Utilisation prévue

La gélose Chocolat *Haemophilus* est un milieu sélectif utilisé pour la détection qualitative et l'isolement de *Haemophilus spp.* dans des échantillons cliniques humains et d'autres échantillons. Il est principalement utilisé pour la culture d'échantillons des voies respiratoires, du sang et du liquide céphalo-rachidien. Le milieu est utilisé pour le diagnostic des infections à *Haemophilus*.

Chez l'homme, les bacilles *Haemophilus* sont présents sur les muqueuses des voies respiratoires supérieures et font partie du microbiome. Certaines espèces sont responsables d'infections. La colonisation commence dès la petite enfance. La source d'infection est l'homme et les infections sont transmises par la voie aérienne (gouttelettes). En raison de sa propagation et de son importance clinique, l'espèce la plus importante est *Haemophilus influenzae*.

Les espèces d'*Haemophilus influenzae*, en particulier celles qui produisent des capsules, sont responsables d'infections invasives graves (méningite, épiglottite, pneumonie grave avec bactériémie, arthrose, cellulite). Les souches non contagieuses sont responsables d'infections non invasives telles que la bronchite chronique, la pneumonie, l'otite moyenne aiguë, la sinusite et la conjonctivite, ainsi que les exacerbations de la Bronchopneumopathie Chronique Obstructive (BPCO).

Référence	Type de milieu	Emballage :
1261PD90	Milieu solide coulé en boîte	2 x 10 boîtes (90 mm)

2. Principe de la procédure

L'hydrolysate enzymatique des tissus animaux et de la caséine fournit les nutriments nécessaires à la croissance bactérienne. Le phosphate monopotassique et le phosphate dipotassique empêchent les changements de pH qui se produisent au cours du processus de production d'amines. L'amidon de maïs absorbe les substances toxiques présentes dans l'échantillon et stimule en même temps la croissance bactérienne. L'hémoglobine fournit une source d'hémine (facteur X), qui est essentielle à la croissance d'*Haemophilus spp.* Le supplément de croissance sous forme de Biovitex fournit le facteur V (NAD) nécessaire à la croissance d'*Haemophilus spp.* ainsi que des vitamines, des acides aminés, des coenzymes, du glucose et des ions de fer. L'ajout de substances sélectives inhibe la croissance de la flore associée. La bacitracine et la vancomycine inhibent principalement les micro-organismes à Gram positif, tandis que l'amphotéricine B est efficace contre les levures et les champignons.

3. Composition moyenne

En g/l d'eau distillée :		Suppléments/litre de milieu :	
Digeste enzymatique de la caséine	7,5 g	Hémoglobine	10,0 g
Digeste enzymatique de tissus animaux	7,5 g	Vancomycine	0,004 g
Amidon de maïs	1,0 g	Amphotéricine B	0,004 g
Agar	10,0 g	Bacitracine	16500 UI
Chlorure de sodium	5,0 g	Biovitex	10,0 mL
Phosphate monopotassique	1,0 g		
Phosphate dipotassique	4,0 g		

pH $7,2 \pm 0,2$ à 25°C.

Aspect du milieu : Homogène, brun.

4. Préparation du milieu

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

5. Matériel nécessaire, non fourni

Matériel de microbiologie de laboratoire standard nécessaire pour les tests, 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 d'agents biologiques pathogènes. Il doit donc être manipulé conformément aux principes de manipulation du matériel biologique potentiellement infectieux.
- Ne pas utiliser les boîtes si le support présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser de boîtes endommagées.
- Ne pas utiliser les boîtes après la date de péremption.
- La ré-incubation de boîtes précédemment inoculées n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats de test corrects, suivre ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans cette notice, 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 stocké à 2-12°C conserve ses propriétés jusqu'à 3 mois à partir de la date de fabrication.

9. Types d'échantillons

Échantillons cliniques humains ou autres échantillons. Prélever les échantillons à tester conformément aux lignes directrices en vigueur. Stocker les échantillons jusqu'à leur livraison au laboratoire conformément aux directives relatives au stockage et au transport du matériel biologique. Les produits provenant des voies respiratoires, tels que le lavage alvéolo-bronchique, les expectorations et les aspirats, doivent être conservés à température ambiante. Les écouvillons prélevés pour les milieux de transport doivent être conservés à température ambiante conformément aux recommandations du fabricant. Les échantillons de liquide céphalo-rachidien ou de sang doivent être conservés à 37°C. Les échantillons ne doivent pas être réfrigérés. Le matériel recueilli pour l'isolement des germes de la gonorrhée doit être inoculé immédiatement après le prélèvement.

10. Procédure de test

1. Laisser le milieu revenir à température ambiante avant l'inoculation. Inoculer
2. l'échantillon en l'étalant directement sur la surface de l'agar.
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 en conditions aérobies ou dans une atmosphère enrichie en CO₂ à 35 ±2°C.
5. Vérifier la croissance après 18-24 heures d'incubation.

11. Lecture et

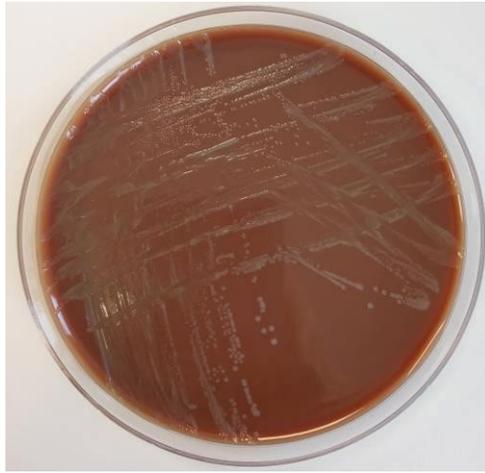
Après incubation, observer :

- la présence d'une colonie bactérienne,
- la morphologie de la colonie.

Morphologie typique des colonies bactériennes cultivées sur la gélose chocolat *Haemophilus* :

Micro-organisme	Morphologie typique d'une colonie
<i>Haemophilus influenzae</i>	Petites colonies, mucoïdes, nacrées avec une odeur caractéristique.
<i>Escherichia coli</i>	Grandes colonies, plates, grises
<i>Candida albicans</i>	Pas de croissance
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pas de croissance

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



Morphologie des colonies et schéma de croissance de *Haemophilus influenzae* sur gélose chocolat *Haemophilus*

12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles et la sélectivité du milieu doivent être vérifiées à l'aide de souches de référence donnant des réactions positives et négatives. Le test doit être effectué à l'aide de 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 :
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49766	Bonne croissance	petit, mucoïde, nacré
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bonne croissance	grand, plat, gris
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Pas de croissance	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Pas de croissance	-

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

13. Limites de la méthode

En raison de la variabilité de la valeur nutritionnelle du milieu, certaines souches peuvent ne pas se développer ou se développer faiblement sur la gélose chocolat *Haemophilus*.

14. Caractéristiques de la méthode

La gélose chocolat *Haemophilus* est une modification de la gélose Chocolat, enrichie par l'ajout d'antibiotiques. L'ajout d'antibiotiques a pour but de limiter le développement d'autres micro-organismes afin d'assurer une bonne croissance de *Haemophilus influenzae*. Les *Haemophilus influenzae* sont des micro-organismes aux besoins nutritionnels élevés, dont l'isolement à partir d'échantillons cliniques, en particulier ceux riches en flore associée comme le nasopharynx, peut présenter certaines difficultés. Il existe sur le marché des milieux dont la composition antibiotique diffère légèrement, mais dont l'application est la même.

Chapin K.C. et Doern G.V. dans J. Clin. Microbiol. ont isolé *Haemophilus influenzae* à partir de matériaux des voies respiratoires supérieures contaminés par une flore microbienne normale. La culture a été réalisée dans trois milieux différents : milieu chocolat enrichi, milieu chocolat avec vancomycine et milieu chocolat avec vancomycine, bacitracine et clindamycine. 852 échantillons pédiatriques ont été testés. Les taux de recouvrement de *Haemophilus influenzae* étaient les suivants : 6%, 28,5% et 59,9%.

De même, Harris T.M. et al. ont étudié le recouvrement d'*Haemophilus influenzae* non capsulé sur un milieu chocolat et un milieu chocolat avec vancomycine, bacitracine et clindamycine. 87,1 % des cultures étaient positives après l'utilisation du milieu chocolat et 97,3 % après l'utilisation du milieu additionné d'antibiotiques.

15. Élimination des milieux 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

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

17. Références

1. Kilian, M. 2003. Haemophilus. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Mannheim, W. et al.: Pasteurellaceae. In: Mikrobiologische Diagnostik (ed. F. Burkhardt). Thieme Verlag, Stuttgart 1992.
3. Vastine, D.W., C.R. Dawson, I. Hoshiwara, C. Yonega, T. Daghfous, and M. Messadi. 1974. Comparison of media for the isolation of Haemophilus species from cases of seasonal conjunctivitis associated with severe endemic trachoma. Appl. Microbiol. 28:688-690.
4. Chapin, K., and G.V. Doern. 1983. Selective media for recovery of Haemophilus influenzae from species contaminated with upper respiratory tract microbial flora. J. Clin. Microbiol. 17:1163-1165.
5. Harris T.M., Rumaseb A., Beissbarth J., Barzi F., Leacj A.J., Smith-Vaughan H.C., Culture of non-typeable Haemophilus influenzae from the nasopharynx: Not all media are equal, J Microbiol. Methods, Jun 2017, 137;3-5

Date du changement	Section	Description du changement
23/03/2023	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
Krağ 4A ; 83-200 Starogard Gdański
www.grasobiotech.pl

Oddział produkcyjny
Leřna 1, Owidz
83-211 Jabłowo

