

CHROMAGAR STREPB/COLUMBIA CNA +5% DE SANG DE MOUTON

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

Référence	Type de milieu :	Emballage :
202081	Boîte de gélose précoulée bi-compartmenté	2 x 10 pcs (90 mm)

1. Utilisation

Détection et isolement des streptocoques du groupe B (*Streptococcus agalactiae*) et des cocci à Gram positif des genres *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* dans des échantillons cliniques humains et d'autres échantillons.

La gélose CHROMagar StrepB est un milieu chromogène sélectif utilisé pour la détection qualitative et l'isolement des streptocoques du groupe B (*Streptococcus agalactiae*).

Le milieu CHROMagar StrepB est principalement utilisé dans les tests de dépistage pendant la grossesse pour la prévention des infections à *Streptococcus agalactiae* chez les nouveau-nés.

Streptococcus agalactiae (SGB) est une espèce de streptocoques qui colonise les voies génito-urinaires, les voies respiratoires supérieures et le tractus gastro-intestinal. On estime que dans les pays européens, jusqu'à 36 % des femmes sont colonisées par le SGB. La présence de *Streptococcus agalactiae* dans les voies génitales des femmes enceintes peut entraîner une infection périnatale des nouveau-nés, dont le risque est estimé à environ 70 %. Les femmes enceintes font l'objet d'un dépistage de *Streptococcus agalactiae*, car la présence de SGB permet un traitement antibiotique périnatal approprié.

La gélose Columbia CNA +5% de sang de mouton est un milieu sélectif utilisé pour la détection qualitative et l'isolement des cocci à Gram positif du genre *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus*.

La fonction du milieu est d'aider au diagnostic chez les patients présentant des symptômes d'infections potentielles, en particulier celles qui se produisent dans des endroits riches en flore bactérienne mixte, tels que le système respiratoire, le système reproducteur et l'abdomen.

De nombreuses espèces du genre *Streptococcus* jouent un rôle important en tant qu'agents pathogènes de l'homme et de l'animal ou font partie du microbiome de la cavité buccale et des voies respiratoires supérieures et gastro-intestinales de l'homme. Les espèces les plus fréquemment isolées à partir d'échantillons cliniques sont : *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* ainsi que certaines espèces de streptocoques alpha-hémolytiques. Ils sont responsables d'un large éventail d'infections, allant des infections invasives graves aux infections respiratoires ou aux infections de la peau et des tissus mous. *Streptococcus pneumoniae* est l'un des principaux agents de la pneumonie et de la méningite et *Streptococcus agalactiae* est responsable d'infections périnatales graves chez les nouveau-nés.

Le genre *Staphylococcus* comprend de nombreuses espèces, dont plus de la moitié sont associées à l'homme, constituant le microbiome humain mais aussi potentiellement à l'origine d'un certain nombre de maladies. Les staphylocoques, en particulier *Staphylococcus aureus*, peuvent provoquer des infections locales touchant presque tous les tissus et organes, ainsi que des infections généralisées, souvent mortelles. Les infections les plus courantes sont les furoncles, l'orge, l'impétigo, les abcès et l'ostéomyélite, l'arthrite septique, l'endocardite, la pneumonie et, plus rarement, la méningite. En outre, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* restent depuis des années en tête de liste des micro-organismes responsables d'infections nosocomiales.

Les *Enterococcus* sont des agents pathogènes opportunistes qui peuvent provoquer des infections en dehors de leur habitat physiologique, en particulier chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli. Ils peuvent provoquer des infections des voies urinaires, des bactériémies et des endocardites. Ils sont souvent isolés chez des patients souffrant d'infections multimicrobiennes intra-abdominales. *Enterococcus faecalis* est plus susceptible de provoquer des infections abdominales, tandis qu'*Enterococcus faecium* est à l'origine d'infections des voies urinaires et des plaies.

2. Principe de la procédure

CHROMagar StrepB

Les peptones et l'extrait de levure sont une source d'azote et de vitamines dans le milieu CHROMagar StrepB. Le supplément sélectif inhibe la croissance de la plupart des bactéries. Le supplément de croissance stimule la croissance de *S. agalactiae*. Le mélange chromogène permet la détection et la différenciation des streptocoques du groupe B (*S. agalactiae*), qui forment des colonies rose-violet caractéristiques sur le milieu.

Columbia CNA Agar +5% de sang de mouton

Le milieu contient des hydrolysats de protéines de grande valeur qui permettent une croissance abondante et rapide des micro-organismes ayant des besoins nutritionnels élevés. L'amidon de maïs est une source d'énergie qui stimule la croissance bactérienne, absorbe les composants toxiques présents dans l'échantillon testé et renforce la réponse hémolytique de certains streptocoques. L'extrait de levure est une source de vitamines B. L'ajout de sang de mouton fournit le facteur X nécessaire à la croissance de nombreuses bactéries, et permet de déterminer le type d'hémolyse, et permet une identification

préliminaire des bactéries présentes dans l'échantillon de test.

L'acide nalidixique et la colistine sont des compléments qui inhibent la croissance des bactéries à Gram négatif (*Enterobacterales* et *Pseudomonas* spp.) sans affecter la croissance des bactéries à Gram positif, c'est-à-dire les staphylocoques, les streptocoques et les entérocoques. La colistine endommage la membrane cellulaire des bactéries à Gram négatif, inhibant ainsi leur croissance, en particulier celle de *Pseudomonas* spp. L'acide nalidixique est un agent antibactérien ayant un effet inhibiteur sur la croissance des bactéries à Gram négatif, qui bloque la réplication de l'ADN chez les bactéries à Gram négatif sensibles.

3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée :

<u>CHROMagar StrepB</u>		<u>Columbia CNA Agar +5% de sang de mouton</u>	
Peptones et extrait de levure	20,0 g	Digestion enzymatique de la caséine	5,0 g
Mélanger le sel	7,5 g	Digestion enzymatique de tissus animaux	8,0 g
Mélange chromogène	2,2 g	Extrait de levure	10,0 g
Agar	15,0 g	Agar	14,0 g
Mélange sélectif S1	0,25 g	Chlorure de sodium	5,0 g
Mélange de facteurs de croissance S2	8,0 ml	Amidon de maïs	1,0 g
		Sang de mouton	50 ml
		Colistine	0,015 g
		Acide nalidixique	0,01 g
		pH 7,3± 0,2 à 25° C.	
pH 7,3± 0,2 à 25° C.		Aspect du milieu - Homogène, rouge	
Aspect du milieu - Clair, gris			

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

Équipement standard de laboratoire microbiologique nécessaire aux 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 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 hémolysées.
- Ne pas utiliser les boîtes après la date de péremption.
- La ré-incubation de boîtes déjàensemencées n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats de test 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 à une température comprise entre 2°C et 12°C jusqu'à la date de péremption, 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 une température comprise entre 2°C et 12°C conserve ses propriétés jusqu'à 55 jours à partir de la date de fabrication.

9. Types d'échantillons

Échantillons cliniques : écouvillons vaginaux, écouvillons rectaux et urine.

Lors du prélèvement d'un écouvillon vaginal et anal avec un seul écouvillon, l'ordre suivant doit être respecté : d'abord le vagin, puis le rectum. Placer les écouvillons dans un milieu de transport tel qu'Amies. Conserver les échantillons d'urine au réfrigérateur pendant 24 heures au maximum. Prélever les échantillons de test conformément aux directives en vigueur. Les conserver conformément aux prescriptions relatives à la conservation des échantillons jusqu'à leur arrivée au laboratoire. Inoculer l'échantillon dès que possible après sa livraison au laboratoire.

10. Procédure de test

1. Laisser le milieu revenir à température ambiante avant l'inoculation.
2. Inoculez l'échantillon en l'étalant directement sur la surface de la gélose.
3. Si l'échantillon est prélevé 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 à l'aide d'une anse stérile en utilisant la méthode des stries à l'aide d'une anse stérile.
4. Incuber la boîte inoculée à $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
5. Vérifier la croissance après 18-24 heures d'incubation.

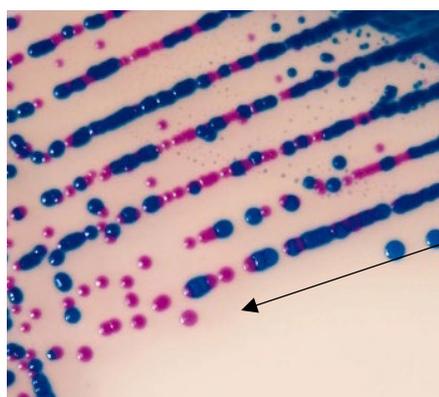
11. Lecture et interprétation

Après l'incubation, observer :

- la présence de colonies bactériennes,
- la morphologie des colonies,
- la coloration des colonies
- le changement de couleur du milieu et présence d'hémolyse

Les morphologie typiques des colonies bactériennes cultivées sur la gélose CHROMagar StrepB :

Micro-organisme	Morphologie typique d'une colonie
<i>Streptococcus agalactiae</i> (groupe B)	Colonies de couleur rose-violet.
<i>Enterococcus</i> spp.	Colonies bleu acier.
<i>Lactobacilles</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactocoques</i>	Colonies rose pâle, croissance faible ou nulle.
<i>Autres micro-organismes</i>	Colonies bleues et incolores ou absence de croissance

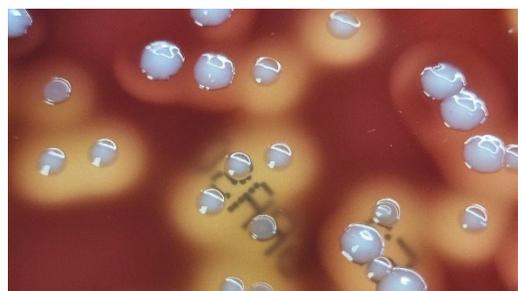


Streptococcus agalactiae

Morphologie des colonies et schéma de croissance des bactéries sur CHROMagar StrepB

Les morphologie typiques des colonies cultivées sur la gélose Columbia CNA +5% de sang de mouton :

Micro-organisme	Morphologie typique d'une colonie	Présence et type d'hémolyse
Streptocoques du groupe A	Colonies transparentes ou semi-transparentes, d'environ 0,5 mm de diamètre, rondes, à bords entiers et à surface lisse.	Une zone distincte d'hémolyse β autour de la colonie
Streptocoques du groupe B	Grandes colonies d'environ 1 à 2 mm de diamètre	Petite zone de β -hémolyse ou absence de β -hémolyse. hémolyse autour de la colonie
Groupe C et G bêta-streptocoques hémolytiques	Morphologie de la colonie similaire à celle des streptocoques du groupe A	Une zone distincte d'hémolyse β autour de la colonie
Streptocoques du groupe D	Colonies plus grandes que les autres groupes de streptocoques, légèrement opalescentes, grises à gris-blanc.	Type d'hémolyse α ou pas d'hémolyse
Pneumococci	Colonies de 0,5-1 mm de diamètre, rondes, à bords entiers, muqueuses.	Incubé sous CO ₂ montrent une large zone de Hémolyse de type α
Streptocoques viridans	Colonies de petite taille (la taille d'une tête d'épingle) à des colonies de taille égale ou supérieure produites par les streptocoques du groupe A, généralement plus petites que les pneumocoques. Mucus, semi-transparentes ou brillantes	Colonies entourées d'une petite zone d'hémolyse de type α ou sans hémolyse.
Staphylocoques	Grandes colonies jaunes ou blanches à grises	Hémolyse de type β ou absence d'hémolyse
Corynébactéries	Colonies petites à grandes, blanches à grises ou jaunes	Colonies, avec ou sans zone d'hémolyse



Staphylococcus aureus



Streptococcus pyogenes



Streptococcus pneumoniae

Morphologie des colonies et schéma de croissance des bactéries sur la gélose Columbia CNA +5% de sang de mouton
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 au laboratoire.

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 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 :

CHROMagar StrepB

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie de la colonie :
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 12386	bonne croissance	rose violet
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	bonne croissance	bleu acier
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	pas de croissance	-

Columbia CNA Agar +5% de sang de mouton

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie de la colonie :	Type d'hémolyse :
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bonne croissance	grande, blanche à grise ou crème à jaune	de type β
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	bonne croissance	petite, blanche à grise,	de type β
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	pas de croissance	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	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 lignes directrices/recommandations en vigueur.

13 Limites de la méthode

- En raison de la variabilité des besoins nutritionnels, certaines souches peuvent se développer faiblement ou pas du tout sur le milieu CHROMagar StrepB/Columbia CAN Agar +5% de sang de mouton.
- L'incubation en présence de CO₂ peut entraîner des résultats faussement positifs.
- L'identification finale doit être confirmée par des tests biochimiques (par exemple, hydrolyse de l'hippurate, dosage de l'AMPc), des immunodosages ou la spectrophotométrie de masse. Ces tests peuvent être effectués sur des colonies prélevées directement sur CHROMagar StrepB
- De rares souches de streptocoques du groupe B peuvent nécessiter 24 heures d'incubation supplémentaires pour obtenir une taille de colonie satisfaisante.
- Certaines souches de streptocoques des groupes C, F et G peuvent se colorer en rose violet.
- Certains micro-organismes, tels que *Aerococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc*, peuvent former des colonies allant du rose violet pâle au violet.
- La plupart des streptocoques du groupe A sont de couleur rose violet, ce qui peut donner lieu à des faux positifs. Toutefois, le test PYR permet de distinguer ces micro-organismes : un test PYR positif indique la présence de *streptocoques* du groupe A ; un test PYR négatif indique la présence de *streptocoques* du groupe B.
- Certaines souches de *staphylocoques* peuvent former des colonies rose pourpre. Un test de capacité catalase permet toutefois de les distinguer : un résultat négatif indique la présence de *streptocoques* du groupe B ; un résultat positif indique la présence de *staphylocoques*.
- Certaines bactéries Gram-négatives présentant une résistance au mélange d'antibiotiques contenu dans la gélose Columbia CNA +5% de sang de mouton peuvent se développer.
- Les champignons peuvent se développer sur la gélose Columbia CNA +5% de sang de mouton.
- Le milieu se caractérise par une teneur relativement élevée en glucides, ce qui signifie que les streptocoques β -hémolytiques peuvent provoquer une hémolyse viridans, parfois interprétée à tort comme une hémolyse de type alpha.
- Certaines bactéries à Gram négatif, telles que *Gardnerella vaginalis* et certains *Bacteriodes* spp., se développent très bien sur la gélose Columbia CNA + 5 % de sang de mouton.
- Certaines bactéries aérobies à Gram positif qui produisent des spores, comme les *Bacillus*, peuvent être inhibées sur la gélose Columbia CNA + 5 % de sang de mouton.

14. Caractéristiques de la méthode

CHROMagar StrepB : les résultats des études d'évaluation du milieu CHROMagar StrepB indiquent une sensibilité et une spécificité élevées. Pour cette étude, 242 écouvillons vaginaux et rectaux ont été utilisés. Les résultats ont été analysés après 24 heures d'incubation à 35°C, en milieu aérobie.

	CHROMagar StrepB	Méthode de référence (CNA)
Sensibilité	> 94%*	92%
Spécificité	> 100%*	100%

* - Les données ci-dessus ont été obtenues à partir de l'étude "Evaluation of four chromogenic media for the isolation of Group B Streptococcus from vaginal specimens in pregnant women" by N. Salem and J. J. Anderson. Austin Pathology, Microbiology Department 2015.

Columbia CNA +5% de sang de mouton : En 1966, Ellner et ses collègues ont présenté un milieu multicomposant avec du sang qui, grâce à l'hydrolysate de caséine et aux peptones, permettait une croissance microbienne plus rapide et plus abondante, une hémolyse plus forte et moins ambiguë, et une morphologie de colonie plus typique avec une meilleure coloration.

La gélose Columbia avec du sang est le milieu de base auquel sont ajoutés divers suppléments pour augmenter sa sélectivité.

La gélose Columbia CNA +5% de sang de mouton est un milieu sélectif commun utilisé pour l'isolement et la culture de micro-organismes à Gram positif cliniquement pertinents. Les cocci à Gram positif du genre *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* peuvent s'y développer, ainsi que les corynébactéries et d'autres cocci. La culture en conditions anaérobies permet d'obtenir la croissance de cocci s anaérobies. Les antibiotiques contenus dans le milieu inhibent la croissance de *Proteus*, *Klebsiella* et *Pseudomonas*. Ce milieu est également utilisé pour déterminer le type d'hémolyse des micro-organismes, ce qui est important pour l'identification préliminaire de certains groupes de bactéries pathogènes, en particulier du genre *Streptococcus*. Certains tests de diagnostic peuvent être effectués sur ce milieu. Toutefois, pour identifier correctement les micro-organismes cultivés, des tests d'identification appropriés doivent être réalisés à l'aide de cultures pures.

15. Élimination des milieux usagés

Les milieux utilisés 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 d'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

- 2014 E. Grenzner, E. Dopico, M. Aguilar, S. Herrero, M.A. Sanchez, R. Manchado Laboratori Clinic l' Hospitalet, Institut Català de la Salut, L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona), Spain
- 2014 B.Berg, M.Hatto, W.LeBar, D.Newton, C.Young University of Michigan Health System, Ann Arbor, MI
- 2011 Didier-Marc Poisson, Marie-Liesse Evrard, Claire Freneaux, Marie-isabelle Vivès and Louis Mesnard Microbiology Laboratory & Gynaecology Obstetric Ward, Centre Hospitalier Régional Orléans, FR
- Evaluation of four chromogenic media for the isolation of Group B Streptococcus from vaginal specimens in pregnant women, N. Salem and J. J. Anderson. Austin Pathology, Microbiology Department 2015
- <https://www.chromagar.com/>
- 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.
- Estevez, E. G. 1984. Bacteriological plate media: review of mechanisms of action. Lab. Med. 15:258- 262.
- Isenberg, H. D. (ed.). 1992. clinical microbiology procedures handbook, vol. 1 p. 1.61-1.67. American Society for Microbiology, Washington, D.C..
- Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9 th ed. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.
- Ruoff, K. L. 1995. Streptococcus, p. 299-305. in P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (eds.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C
- MacFaddin, J. F. 1985 Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 86-92. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Diffco & BBD Manual, Manual of Microbiology Culture Media, Second Edition, 2009

Historique des modifications apportées au document

Date du changement	Section	Description du changement
2023/05/17	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 ; 83-200 Starogard Gdański
www.grasobiotech.pl
tél. + 48 (58) 562 30 21

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

