

GÉLOSE CHOCOLAT

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

1. Utilisation prévue

La gélose chocolat est un milieu utilisé pour la détection qualitative et l'isolement des micro-organismes pathogènes fastidieux dans des échantillons cliniques humains et non humains.

Le milieu est conçu pour faciliter le diagnostic et peut être utilisé pour tout type d'échantillons, mais son objectif principal est d'isoler les micro-organismes fastidieux, tels que *Haemophilus*, *Neisseria* et *Streptococcus*, à partir d'échantillons cliniques humains. La composition du milieu, en particulier la teneur en sang de mouton dénaturé, est propice à la culture d'*Haemophilus* mais aussi d'autres micro-organismes pathogènes du genre ou *Streptococcus*.

Les *Haemophilus influenzae*, en particulier ceux 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 d'exacerbations de la POChP. bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO)

Deux espèces du genre *Neisseria* sont pathogènes pour l'homme. *Neisseria gonorrhoeae* est l'agent étiologique de la gonorrhée, une maladie sexuellement transmissible, et *Neisseria meningitidis* est responsable de la méningite et de la septicémie connues sous le nom de maladie invasive à méningocoques.

Les streptocoques, y compris *Streptococcus pneumoniae*, sont les agents les plus courants de l'inflammation des voies respiratoires, de la méningite et de la septicémie.

Référence :	Type de milieu :	Emballage :
1080PD90	Boîte de gélose pré-coulée prête à l'emploi	2 x 10 pcs (90 mm)

2. Principe de la procédure

Hydrolysats enzymatiques des tissus animaux et de la caséine fournissent 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 de *Haemophilus spp.* Le supplément de croissance sous forme de Biovitex fournit le facteur V (NAD) nécessaire à la croissance de *Haemophilus spp.* ainsi que des vitamines, des acides aminés, des coenzymes, du glucose, des ions de fer et d'autres facteurs favorisant la croissance de *Neisseria spp.* pathogènes.

3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée :	Suppléments/litre de milieu :		
Hydrolysats enzymatiques de la caséine	7,5 g	Supplément de croissance (BIOVITEX)	2,0 ml
Hydrolysats enzymatiques de tissus animaux	7,5 g	2% de l'hémoglobine	100,0 ml
Amidon de maïs	1,0 g		
Agar	10,0 g		
Chlorure de sodium	5,0 g		
Phosphate monopotassique	1,0 g		
Phosphate dipotassique	4,0 g		

pH 7,2 ± 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 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. Éviter la congélation de la gélose, ne pas conserver les boîtes près des parois du réfrigérateur. 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. Inoculer les échantillons dès que possible après la livraison de l'échantillon au laboratoire. Les produits provenant des voies respiratoires, tels que le lavage alvéolaire et 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. L'échantillon recueilli pour l'isolement des germes de la gonorrhée doit être inoculé immédiatement après le prélèvement.

10. Procédure de test

1. Le milieu doit être amené à température ambiante avant d'être utilisé
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 près du bord de la boîte, puis ensemercer l'échantillon par la méthode des stries à l'aide d'une anse stérile
4. Incuber les boîtes inoculées dans des conditions aérobies ou dans une atmosphère enrichie en CO₂, à 35 ±2°C.
5. Examiner la croissance après 18-24 heures d'incubation.

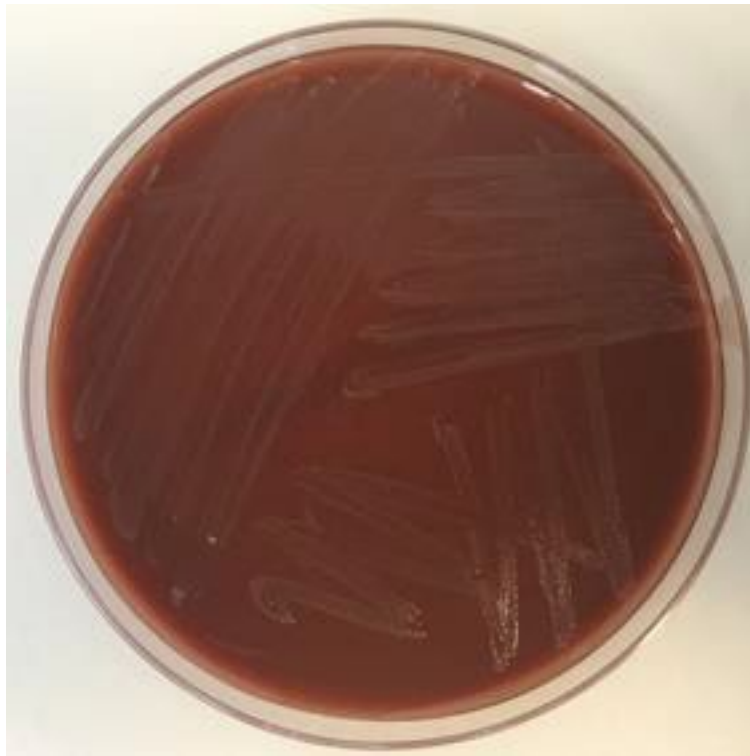
11. Lecture et interprétation

Après incubation, observer :

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

Morphologie typique des colonies bactériennes cultivées sur la gélose chocolat :

Micro-organisme	Morphologie typique d'une colonie
<i>Haemophilus influenzae</i>	Colonies petites, mucoïdes, nacrées avec une odeur caractéristique.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Colonies petites, blanc grisâtre, mucoïdes
<i>Neisseria meningitidis</i>	Colonies moyennes à grandes, bleu-gris, mucoïdes
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Colonies petites, plates, visqueuses, verdâtres, le substrat autour de la colonie peut avoir une coloration verdâtre.



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

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.

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 et fraîches 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	petite, mucoïde, nacré
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	bonne croissance	petite, plate, muqueuse, verdâtre avec décoloration du substrat autour de la colonie
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	bonne croissance	moyenne à grande, bleu-gris, mucoïde
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	bonne croissance	petit, blanc grisâtre, mucoïde

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 applicables.

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 la gélose chocolat.
- En fonction du type d'échantillon prélevé et de la stabilité de l'agent pathogène recherché, il convient d'utiliser des conditions appropriées pour le transport de l'échantillon vers le laboratoire.
- En fonction du type d'échantillon testé et de l'agent pathogène recherché, il est recommandé d'ensemencer l'échantillon sur un autre milieu sélectif supplémentaire spécifique à l'agent pathogène.
- Pour les matériaux suspectés de contenir des bactéries *Neisseria gonorrhoeae*, il n'est pas recommandé de prélever des échantillons à l'aide d'écouvillons
- Si l'échantillon testé peut contenir des gonocoques, il doit être inoculé immédiatement après le prélèvement.

14. Caractéristiques de la méthode

La gélose chocolat est un milieu de base pour la culture de bactéries fastidieuses telles que *Neisseria*, *Haemophilus*, *Streptococcus* ou autres. Actuellement, de nombreuses variantes de ce milieu sont disponibles sur le marché, mais il est toujours utilisé dans les diagnostics microbiologiques de routine. La version de base du milieu est très souvent enrichie d'un facteur de croissance (Isovitalex, Biovitex, etc.).

Saha S.K. et al. dans les pages de Indian J. Med. Res. ont étudié l'effet de l'ajout d'un facteur de croissance au milieu chocolat. La raison de cette étude était le faible taux de détection des infections causées par *Haemophilus influenzae* de type b. Des erreurs dans la détection de ces micro-organismes ont été citées comme raison du faible taux d'isolement. Nous avons analysé 194 isolats d'*Haemophilus influenzae* de type b, qui ont été inoculés séparément sur des boîtes contenant des variantes de milieu chocolat avec et sans Isovitalex. La taille moyenne des colonies obtenues n'était supérieure que de 0,1 cm dans le milieu additionné d'un facteur de croissance. Il a été conclu que l'ajout de substances favorisant la croissance bactérienne est d'une importance négligeable pour la culture et l'isolement de ce micro-organisme.

La gélose chocolat est souvent utilisée pour l'isolement de *Neisseria gonorrhoeae*, mais dans ce cas, il est préférable de l'utiliser avec d'autres milieux pour augmenter la sensibilité du test. Bonin P. et al. ont comparé trois milieux pour l'isolement de *Neisseria gonorrhoeae* : la gélose chocolat (CA), le milieu Thayer-Martin modifié (MTM) et le milieu sélectif sans vancomycine (VFSM). Sur les 326 infections gonococciques du canal cervical, 92 % ont été détectées avec le milieu CA contre 98,2 % avec le milieu MTM. De même, sur 306 infections gonococciques du canal cervical, 95,8 % des infections ont été détectées avec le milieu VFSM contre 98,4 % avec le milieu MTM. Pour 1 632 cas d'infections urétrales masculines, les trois substrats étaient équivalents et ont permis de détecter plus de 98 % des infections.

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 support décrit doivent être signalés au fabricant et aux autorités compétentes.

17. Références















1. Martin, J.E., T.E. Billings, J.F. Hackney, and J.D. Thayer. 1967. primary isolation of *N. gonorrhoeae* with a new commercial medium. *Public Health Rep.* 82:361-363.
2. 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.
3. Ruoff, L.R. 2003. *Aerococcus*, *Abiotrophia*, and other infrequently isolated aerobic catalasenegative, gram-positive cocci. 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. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. specimen collection, transport, and processing: 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..
5. Forbes, B.A., and P.A. Granato. 1995. processing specimens for bacteria. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C..
6. Murray, P. R., E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003 *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C..
7. Saha S.K., Baqui A.H., Darmstadt G.L., Islam M., Arifeen S.E., Santosham M., Nagatake T., Black R.E., Addition of isolvitalex in chocolate agar for the isolation of *Haemophilus influenzae*, *Indian J. Med. Res.*, Jan 2009, 99-101
8. Ronin P Tanino T T Handsfield H H Isolation of *Neisseria gonorrhoeae* on selective and nonselective media in

Historique des modifications apportées au document

Date du changement	Section	Description du changement
03/02/2023	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

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

