



BD Group A Selective Strep Agar with 5% Sheep Blood (ssA)

APPLICATION

La **BD Group A Selective Strep Agar with 5% Sheep Blood (ssA)** (Gélose strep sélective groupe A avec 5 % de sang de mouton) est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et l'identification présomptive des streptocoques du groupe A à partir de cultures prélevées dans la gorge et d'autres échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Une infection provoquée par les streptocoques du groupe A de Lancefield (*Streptococcus pyogenes*) est susceptible d'engendrer de sérieuses séquelles comme le rhumatisme articulaire aigu et la glomérulonéphrite aiguë. C'est pourquoi une détection et une identification précoces de l'infection sont primordiales. Comme la flore normale présente dans les échantillons de gorge cultivés sur géloses au sang en boîtes de Pétri couramment utilisées se développe de manière excessive, des ingrédients sélectifs ont été ajoutés à la gélose au sang de mouton, afin de faciliter la détection des streptocoques du groupe A.

L'étude de différents agents antimicrobiens effectuée dans nos laboratoires a permis de produire un milieu associant plusieurs composants, qui se distingue des autres milieux sélectifs testés par une sélectivité accrue. Ce milieu (ssA) permet l'identification présomptive de streptocoques du groupe A basée sur le test de sensibilité à la bacitracine et sur la bêta-hémolyse dans les 24 heures qui suivent son ensemencement, s'il est incubé dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone.^{1,2}

La **BD Group A Selective Strep Agar with 5% Sheep Blood** résulte de l'incorporation d'une combinaison unique d'ingrédients sélectifs dans une gélose **Trypticase Soy Sheep Blood II Agar** (TSA II), de manière à supprimer la flore microbienne normale présente dans la gorge et à améliorer la mise en évidence des *S. pyogenes*. Le sang de mouton défibriné fournit l'enrichissement nécessaire à la croissance de tels microorganismes exigeants et permet de révéler la bêta-hémolyse type des *S. pyogenes*. Les streptocoques bêta-hémolytiques présentant une zone d'inhibition en périphérie d'un disque de bacitracine (0,04 unité) sont identifiés de manière présomptive comme des streptocoques du groupe A.

REACTIFS

BD Group A Selective Strep Agar with 5% Sheep Blood (ssA)

Formule* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	14,5 g
Digestion papaïque de semoule de soja	5,0
Chlorure de sodium	5,0
Gélose	14,0
Facteurs de croissance	1,5
Agents sélectifs	40,2 mg
Sang de mouton, défibriné	5 %

pH de 7,4 ± 0,2

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement. 

Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessiccation, de fissure ou toute autre trace de détérioration.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas congeler ni surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.

Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus de détails, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Un **BD Taxo A** disc (0,04 unité de bacitracine par disque) peut être placé à la jonction de la première et de la seconde zone striée, dans toutes les boîtes de Pétri ensemencées avec des *S. pyogenes*.

Incuber les boîtes à 35 ± 2 °C dans une atmosphère aérobie complétée au dioxyde de carbone.

Examiner les boîtes de Pétri au bout de 18 à 24 h afin de contrôler la bêta-hémolyse, la croissance, l'inhibition, la taille des colonies et les réactions hémolytiques.

Souches	Croissance
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Croissance bonne à importante ; les colonies de minuscule à petite taille présentent une β-hémolyse ; zone d'inhibition en périphérie du disque de bacitracine
<i>Streptococcus mitis</i> DSM 12643	Inhibition partielle à complète
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibition complète
<i>Neisseria subflava</i> ATCC 14799	Inhibition complète
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition partielle à complète
Sans ensemencement	Rouge à rouge foncé (couleur sang)

MÉTHODE

Matériaux fournis

BD Group A Selective Strep Agar with 5% Sheep Blood (ssA), fournie en boîte de Pétri **Stacker** de 90 mm. Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons et prélèvement

Ce milieu est utilisé pour cultiver les échantillons prélevés dans la gorge ou tout autre échantillon présumé contenir des *Streptococcus pyogenes* (= streptocoques du groupe A). Des échantillons de gorge adaptés à la mise en culture peuvent être prélevés en écouvillonnant le pharynx et la région des amygdales à l'aide d'un écouvillon à embout en polyester ou en polyuréthane. Veiller à ne pas toucher la langue ni la luette. Les échantillons provenant de sources autres que de la gorge doivent être mis en culture conformément aux méthodes recommandées. Des milieux de transport appropriés doivent être utilisés lorsqu'un laps de temps important est prévu entre le prélèvement et la mise en culture de l'échantillon. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{3,4}

Mode opératoire du test

Strier les échantillons sans attendre, dès leur arrivée au laboratoire. La méthode de la striation des milieux en boîte de Pétri sert essentiellement à isoler des cultures pures à partir d'échantillons contenant une flore mixte. Si la matière doit être cultivée directement à partir d'un écouvillon, rouler ce dernier sur une petite surface de la boîte de Pétri près du bord, puis strier l'échantillon depuis la zone inoculée pour isoler les cultures. Un **BD Taxo A** disc (0,04 unité de bacitracine par disque) peut être placé à la jonction de la première et de la seconde zone striée, dans toutes les boîtes de Pétri. Une boîte contenant une gélose au sang non sélective comme la **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** ou la **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood** doit également être ensemencée pour détecter d'autres pathogènes susceptibles d'être présents dans l'échantillon.

Incuber les boîtes de Pétri ensemencées à 35 ± 2 °C, en atmosphère enrichie au dioxyde de carbone. Examiner les boîtes après 18 à 24 h.

Résultats

Au bout de 18 à 24 h d'incubation dans une atmosphère enrichie au dioxyde de carbone, les streptocoques du groupe A (*S. pyogenes*) cultivés sur gélose **ssA** prennent la forme de petite colonies (1 à 2 mm) translucides à opaques, de couleur blanche à grise, cernées par une zone de bêta-hémolyse. Elles présentent généralement une taille plus réduite que le contrôle non sélectif, la Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood. Il est possible que des colonies localisées ou des colonies très petites de streptocoques alpha-hémolytiques, de streptocoques ne présentant aucun signe d'hémolyse ou de streptocoques bêta-hémolytiques se développent en petit nombre, mais leur présence ne devrait pas affecter la mise en évidence de streptocoques du groupe A ni l'interprétation des résultats. La croissance des espèces *Neisseria*, des streptocoques viridans, des staphylocoques, des bacilles Gram négatifs et celle de la plupart des streptocoques bêta-hémolytiques autres que ceux appartenant aux groupes A et B est inhibée, lorsque ces microorganismes sont cultivés sur gélose **ssA**. Le test de sensibilité à la bacitracine peut être utilisé pour différencier les streptocoques du groupe A de ceux du groupe B. Une croissance modérée à forte de colonies bêta-hémolytiques présentant une zone d'inhibition en périphérie du **Taxo A** disc peut être un indice d'appartenance aux *S. pyogenes*. Une réaction PYR (acide L-pyroglutamique) peut également être effectuée. Elle est plus spécifique et tout aussi sensible que le test de sensibilité à la bacitracine.³ En outre, des colorations de Gram doivent être réalisées puis examinées.

Une procédure de tests de groupage sérologique peut être exécutée dans la mesure où le nombre de colonies bêta-hémolytiques bien isolées est suffisant.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Group A Selective Strep Agar with 5% Sheep Blood (ssA)** peut être utilisée avec des échantillons contaminés par la flore normale, tels que les écouvillons de gorge ou d'autres (p.ex., des écouvillons de plaie ou de pus), qui sont présumés contenir des streptocoques du groupe A.

Une procédure d'évaluation des performances portant sur 460 cultures de gorge a donné les résultats suivants : 117 échantillons cultivés sur **BD Group A Selective Strep Agar with 5% Sheep Blood (ssA)** étaient positifs aux streptocoques du groupe A (*S. pyogenes*), tandis que seuls 100 échantillons se sont révélés positifs sur gélose SXT Sheep Blood Agar et 84 sur gélose **BD Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)**. Parmi les cultures positives, 103 ont été identifiées grâce au test de sensibilité à la bacitracine (0,04 unité) et à la bêta-hémolyse dans les 24 h qui ont suivi leur ensemencement sur **ssA**, contre 80 échantillons cultivés sur gélose SXT, et seulement 32 cultivés sur le contrôle non sélectif, la TSA blood agar.²

La **BD Group A Selective Strep Agar with 5% Sheep Blood (ssA)** n'inhibe pas toutes les souches de streptocoques du groupe B (*Streptococcus agalactiae*).

Comme il n'existe pas de milieu parfait, il est possible que certaines souches de streptocoques du groupe A (*S. pyogenes*) se développent difficilement sur ce milieu ; la nature des échantillons et l'état physiologique des microorganismes peuvent affecter la mise en évidence des espèces souhaitées et parfois modifier les effets des caractéristiques inhibitrices du milieu concerné. Par conséquent, il convient de comparer la croissance sur ce milieu avec celle constatée sur une

gélose au sang non sélective comme la **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** ou la **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood**, afin d'obtenir des informations supplémentaires et de mettre en évidence les pathogènes potentiels.

Certains test diagnostiques peuvent être effectués sur la boîte de Pétri d'isolement primaire. Néanmoins, il est recommandé d'exécuter les tests biochimiques et les procédures sérologiques sur culture pure. Pour plus d'informations, et pour connaître les procédures recommandées, consulter les publications citées en référence.³⁻⁵

REFERENCES

1. Evans, G.L., and T.E. O'Neill. 1984. Development of an improved selective medium for the isolation of group A streptococci from throat cultures, Abstr. C-136, p. 259. Abstr. 84th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1984.
2. Carlson, J.R., W.G. Merz, B.E. Hansen, S. Ruth, and D.G. Moore. 1985. Improved recovery of group A beta-hemolytic streptococci with a new selective medium. J. Clin. Microbiol. 21:307-309.
3. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
4. Ruoff, K.L. 1995. *Streptococcus*, p. 299-307. 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.
5. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1992. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 4th ed. J.B. Lippincott Co., Philadelphia.

CONDITIONNEMENT

BD Group A Selective Strep Agar with 5% Sheep Blood (ssa)

N° réf. 254050

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD