

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

APPLICATION

La **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)** (gélose GC Sabouraud / milieu CHROMagar Candida en boîte de Pétri à deux compartiments) est utilisée pour l'isolement sélectif des champignons et pour l'isolement et l'identification des *Candida albicans*, des *C. tropicalis* et des *C. krusei* à partir d'échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

La Sabouraud Agar au glucose est un milieu couramment utilisé qui, en raison de son faible pH et de sa forte concentration en glucose, est partiellement sélectif pour les champignons. De nombreuses bactéries étant capables de tolérer le faible pH et la forte concentration en glucose et pouvant se développer sur la Sabouraud agar, en particulier lors des périodes d'incubation prolongées souvent nécessaires pour isoler des champignons, plusieurs formulations comportant des inhibiteurs antibactériens ont été développées. Il a été démontré que des agents antimicrobiens tels que la pénicilline, le chloramphénicol, les aminoglycosides, seuls ou associés les uns aux autres, pouvaient inhiber les bactéries sans affecter la croissance fongique.¹⁻⁶

Dans la Sabouraud GC Agar, les peptones constituent des sources d'azote. Le glucose (=dextrose) est une source d'énergie pour la croissance des champignons. Le chloramphénicol et la gentamicine sont des antibiotiques à spectre étendu qui inhibent un grand nombre de bactéries Gram positives et Gram négatives.

Le CHROMagar Candida Medium est un milieu sélectif et différentiel permettant d'isoler les champignons. Des substrats chromogènes étant incorporés au milieu, les colonies de *C. albicans*, de *C. tropicalis* et de *C. krusei* produisent des couleurs distinctes qui permettent de détecter directement ces espèces de levure sur la boîte d'isolement.⁷⁻¹² Les colonies de *C. albicans* sont d'un vert clair à moyen, celles de *C. tropicalis* sont bleu verdâtre à bleu métallisé, et celles de *C. krusei* rose pâle à blanchâtre en périphérie. D'autres espèces de levure peuvent prendre leur couleur naturelle (crème) ou un aspect rose ou mauve clair à foncé [p. ex. *Candida (Torulopsis) glabrata* et autres]. Ce milieu présente l'avantage supplémentaire de faciliter la détection des cultures de levure mélangées, leurs colonies apparaissant dans des couleurs différentes.^{7,9-12}

Des peptones spécialement sélectionnées fournissent les éléments nutritifs du **CHROMagar Candida Medium**. Ce mélange chromogène spécialement mis au point se compose de substrats artificiels (chromogènes) qui libèrent des composés de diverses couleurs lorsqu'ils sont dégradés par des enzymes spécifiques. Cela permet de différencier certaines espèces ou de détecter certains groupes de microorganismes à l'aide d'un nombre minimum de tests de confirmation. Le chloramphénicol inhibe la plupart des contaminants bactériens.

BD Diagnostic Systems commercialise le **CHROMagar Candida Medium**, développé par A. Rambach, dans le cadre d'un contrat de licence passé avec CHROMagar, Paris, France.

REACTIFS

Formules* par litre d'eau purifiée

BD Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol		CHROMagar Candida Medium	
Digestion pancréatique de caséine	5,0 g	Chromopeptone	10,0 g
Digestion peptique de tissu animal	5,0	Glucose	20,0
Glucose	40,0	Mélange chromogène	2,0
Gélose	15,0	Chloramphénicol	0,5
Gentamicine	0,04	Gélose	15,0
Chloramphénicol	0,4	pH 6,0 ± 0,3	
pH 5,6 ± 0,2			

*Ajustées et/ou complétées 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, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes 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 les congeler ni les surchauffer. Les boîtes peuvent êtreensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.

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.

Maintenir à l'abri de la lumière avant et pendant l'incubation car la lumière peut détruire les chromogènes.

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**). Incuber les boîtes de Pétri en conditions aérobies à 35 ± 2 °C pendant 20 à 48 h.

Souches	Sabouraud GC Agar	CHROMagar Candida Medium
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Croissance bonne à importante, colonies de couleur blanche	Croissance bonne à importante, colonies de couleur vert clair à vert moyen
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	Croissance bonne à importante, colonies planes de couleur blanche à crème	Croissance bonne à importante, colonies planes, rose pâle à rose, blanchâtre en périphérie
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 1369	Croissance bonne à importante, colonies de couleur blanche à crème	Croissance bonne à importante ; colonies gris-bleu à bleu à verdâtre, ou bleu métallisé avec ou sans auréole violette dans le milieu entourant les colonies
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Inhibition partielle à complète	Inhibition partielle à complète
* <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Croissance bonne à importante	Croissance bonne à importante
Sans ensemencement	Couleur ambre transparente	Couleur ambre transparente

* Durée maximale d'incubation : 4 jours

METHODE

Matériaux fournis

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm divisées en deux compartiments). Produits contrôlés microbiologiquement.

Pour faciliter l'identification des milieux contenus dans cette boîte à deux compartiments, la Sabouraud GC Agar est repérée d'une étiquette à point noir.

Matériaux non fournis

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

Types d'échantillons

Les milieux proposés dans cette boîte sont utilisés pour isoler des champignons et pour isoler et identifier les *Candida albicans*, les *C. tropicalis* et les *C. krusei* à partir de tous les types d'échantillons cliniques (voir également la rubrique « **CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE** »).

Mode opératoire du test

Strier l'échantillon ou la culture afin de créer l'isolement sur la surface de chaque milieu. Si l'échantillon est cultivé à partir d'un écouvillon, rouler délicatement ce dernier sur une petite zone de chaque surface près du bord, puis strier à partir de ces zones à l'aide d'une anse. Incuber les boîtes en conditions aérobies à 35 ± 2 °C. Maintenir à l'abri de la lumière avant et pendant l'incubation. Examiner le CHROMagar Candida Medium au bout de 42 à 48 h. Certains champignons filamenteux à croissance lente pouvant nécessiter une durée d'incubation plus longue, replacer la boîte dans l'incubateur jusqu'au jour 4 ou date ultérieure. Après cette période, vérifier si la Sabouraud GC Agar comporte de nouveaux isolats encore non décelés sur le CHROMagar Candida Medium, mais ne pas réexaminer ce dernier après l'incubation prolongée. Pour que leur identification soit complète, les isolats trouvés dans la Sabouraud GC Agar doivent subir de nouveaux tests de différenciation.³⁻⁶ Certains isolats occasionnels tels que *Cryptococcus neoformans*, ainsi que les champignons filamenteux, nécessitent une durée d'incubation plus longue, et parfois une température d'incubation plus basse. C'est pourquoi, si un échantillon est susceptible de comporter des champignons nécessitant une température d'incubation inférieure, il est recommandé d'ensemencer une boîte de **BD Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol** avec l'échantillon et d'incuber celle-ci à une température de 25 à 30 °C.

Résultats

Au bout de la durée d'incubation appropriée, examiner la Sabouraud GC Agar pour déceler des colonies de champignons de couleur et de morphologie caractéristiques. Pour compléter l'identification des isolats, effectuer des tests biochimiques et microscopiques, ainsi que des analyses sérologiques.³⁻⁶

CHROMagar Candida Medium : Il est recommandé d'examiner ce milieu sur un fond blanc. En présence de *Candida* spp., les colonies ont un aspect vert clair à vert moyen (*C. albicans*), rose clair à rose, blanchâtre en périphérie (*C. krusei*), ou bleu verdâtre à bleu métallisé, avec ou sans une auréole violette (*C. tropicalis*). Les autres *Candida* spp. et les autres levures ont une couleur mauve clair à foncé (rose à violet) ou, si aucun substrat chromogène n'est utilisé, présentent leur couleur naturelle (crème à blanc).

Diverses études indiquent qu'aucun test d'identification complémentaire n'est nécessaire pour *Candida albicans*, *C. tropicalis* et *C. krusei*.^{7,9-11}

Les colonies de couleur rose clair à rose foncé, ou mauve à violet, ou encore qui présentent leur couleur crème naturelle, doivent être identifiées au moyen de méthodes standard.⁷⁻¹¹

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)** est utilisée pour l'isolement sélectif des champignons (Sabouraud GC Agar) et pour l'isolement et l'identification des *C. albicans*, des *C. krusei* et des *C. tropicalis* (**CHROMagar Candida Medium**).

La Sabouraud GC Agar est un milieu conventionnel couramment utilisé pour l'isolement sélectif des champignons. Les isolats obtenus à partir de ce milieu doivent faire l'objet d'une

différenciation complémentaire réalisée par des méthodes classiques d'identification des champignons.¹⁻⁶

Les *Nocardia* et les *Actinomyces* sont des bactéries filamenteuses et non des champignons. Par conséquent, elles ne se développent pas dans les milieux Sabouraud contenant des inhibiteurs de bactéries.

Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur l'identification des isolats, et pour connaître les procédures recommandées.^{3-6,8}

Plusieurs études et manuels documentent l'utilisation du **CHROMagar Candida Medium** pour l'identification directe des *C. albicans*, des *C. krusei* et des *C. tropicalis*, et ces documents peuvent également être consultés pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.^{7,9-12} L'équipe Jabra-Rizk a publié les résultats d'une récente évaluation des performances du **BD CHROMagar Candida Medium**.¹¹

Les *Candida (Torulopsis) glabrata* produisent généralement des colonies de couleur mauve à mauve foncé sur ce milieu.⁹ Cependant, il est recommandé de confirmer l'identification des microorganismes ayant cette couleur en réalisant des tests biochimiques supplémentaires, car diverses espèces de levure peuvent produire des colonies de cette couleur.

Les colonies prenant, dans ce milieu, une couleur rose ou mauve clair à foncé, ou leur couleur crème naturelle, doivent être identifiées au moyen de méthodes standard.³⁻⁵

Il est également possible d'isoler des champignons autres que des levures dans ce milieu, en appliquant des températures et des durées d'incubation appropriées.

Les champignons filamenteux étant susceptibles de métaboliser les substrats chromogènes, il est possible que les couleurs qu'ils produisent sur le **CHROMagar Candida Medium** diffèrent de celles qu'ils généreraient sur d'autres milieux fongiques. Il convient de ne jamais utiliser l'aspect de la croissance des champignons filamenteux sur ce milieu pour effectuer une identification morphologique traditionnelle.

Il a été rapporté que les *C. dubliniensis* produisaient une couleur vert foncé caractéristique lors de leur isolement primaire sur **CHROMagar Candida Medium**.¹³⁻¹⁵ Cependant, cette propriété ne peut pas être conservée lors des repiquages. D'autres tests phénotypiques et génotypiques sont nécessaires pour confirmer l'identification des *C. dubliniensis*. Pour différencier les deux espèces, de simples tests phénotypiques suffisent, par exemple croissance de l'isolat à 45 °C (*C. dubliniensis* : négatif ; *C. albicans* : positif).¹²

Avant d'utiliser le **BD CHROMagar Candida Medium** pour la première fois, il est recommandé de se familiariser avec l'aspect caractéristique de ces colonies à l'aide de souches définies de *C. albicans*, de *C. krusei* et de *C. tropicalis*, par exemple celles citées sous **CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR**.

Plusieurs champignons filamenteux nécessitent des températures d'incubation inférieures à celles nécessaires à la **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)**. Cependant, l'incubation de cette boîte de Pétri à deux compartiments à des températures inférieures à 35 °C peut retarder les réactions chromogènes sur le **CHROMagar Candida Medium**.

REFERENCES

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London.
2. Atlas, R.M. 1993: Handbook of Microbiological media; CRC Press, Boca Raton
3. Ajello, L., L.K. Georg, W. Kaplan, and L. Kaufman. 1963. CDC laboratory manual for medical mycology. PHS Publication No. 994, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
4. Larone, D.H. 1995: Medically important fungi - a guide to identification. Third edition. American Society for Microbiology Press, Washington.
5. Merz, W.G., Roberts, G.D. 1995: Detection and recovery of fungi from clinical specimens. In: Manual of Clinical Microbiology (eds. Murray, P.R. et al.) , p. 709-722. ASM Press, Washington D.C.
6. Weitzman, I., J. Kane, and R.C. Summerbell. 1995. Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton and agents of superficial mycoses, p. 791-808. In P.R. Murray, E.J. Baron,

- M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Odds, F.C., and R. Bernaerts. 1994. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. J. Clin. Microbiol. 32: 1923-1929.
 8. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
 9. Pfaller, M.A., A Huston, and S. Coffman. 1996. Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida (Torulopsis) glabrata*. J. Clin. Microbiol. 34: 56-61.
 10. Beighton, D., R. Ludford, D.T. Clark, S.R. Brailsford, C.L. Pankhurst, G.F. Tinsley, J. Fiske, D. Lewis, B. Daly, N. Khalifa, V. Marren, and E. Lynch. 1995. Use of CHROMagar Candida medium for isolation of yeasts from dental samples. J. Clin. Microbiol. 32: 3025-3027.
 11. Jabra-Rizk, M.A. et al. 2001. Evaluation of a reformulated CHROMagar Candida Medium. J. Clin. Microbiol. 30: 2015-2016.
 12. Hazen, K.H., and S.A. Howell. 2003. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
 13. Schoofs, A., F.C. Odds, R. Coleblunders, M. Ieven, and H. Goosens. 1997. Use of specialised isolation media for recognition and identification of *Candida dubliniensis* isolates from HIV-infected patients. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 16:296-300.
 14. Kirkpatrick, W.R., S.G. Revankar, R.K. McAtee, J.L. Lopez-Ribot, A.W. Fothergill, D.I. McCarthy, S.E. Sanche, R.A. Cantu, M.G. Rinaldi, and T.F. Patterson. 1998. Detection of *Candida dubliniensis* in oropharyngeal samples from Human Immunodeficiency Virus-infected patients in North America by primary CHROMagar Candida screening and susceptibility testing of isolates. J. Clin. Microbiol. 36:3007-3012.
 15. Odds, F.C., L. Van Nuffel, and G. Dams. 1998. Prevalence of *Candida dubliniensis* isolates in a yeast stock collection. J. Clin. Microbiol. 36:2869-2873.

CONDITIONNEMENT

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

N° réf. 254515

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.



BD Diagnostic Systems

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

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2003 Becton, Dickinson and Company.