



BBL Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood
BBL Brain Heart Infusion Agar with 10% Sheep Blood,
Chloramphenicol and Gentamicin
BBL Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin
8806371 • Rév. 03 • avril 2015

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Ces milieux servent à l'isolement qualitatif et à la culture des champignons pathogènes et non pathogènes à partir d'échantillons cliniques et non cliniques.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Dans le cas de *C. albicans*, *E. coli* et *S. aureus*, ensemencer en stries avec 1 µL (0,001 mL) à partir d'une culture de 4 – 5 h de **Trypticase** Soy Broth dilué à 10⁶ – 10⁷ CFU/mL.
 - b. Pour les autres microorganismes, ensemencer directement à partir d'une boîte mère en utilisant une culture fongique fraîche (vieille de 1 mois au maximum).
 - c. Incorporer Sabouraud Dextrose Agar comme contrôle pour les organismes.
2. Incuber tous les tubes entre 20 et 25 °C.
3. Examiner les tubes régulièrement pendant 7 jours pour déceler une croissance éventuelle, la couleur des colonies et la sélectivité.
4. Résultats attendus

Milieu	Microorganismes	ATCC	Récupération	Couleur des colonies
BHI Sheep Blood Agar	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Croissance moyenne à importante	Blanc à crème à ocre
	* <i>Candida albicans</i>	60193	Croissance moyenne à importante	Blanc à crème
	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Croissance moyenne à importante	Blanc à crème/jaune
BHI Sheep Blood Agar with Chloramphenicol and Gentamicin	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Croissance moyenne à importante	Blanc à crème à ocre
	* <i>Candida albicans</i>	10231	Croissance moyenne à importante	Blanc à crème
	* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibée	N/A
	* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Inhibée	N/A
	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Croissance moyenne à importante	Blanc à crème/jaune
Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Inhibée	N/A
	* <i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Croissance moyenne à importante	N/A
	* <i>Candida albicans</i>	10231	Croissance moyenne à importante	Blanc à crème, pâteux
	* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibée	N/A
	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Croissance moyenne à importante	Blanc à crème/jaune, velouté

*Souche de microorganisme recommandée pour le contrôle de qualité par l'utilisateur.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des tubes représentatifs pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Pour le milieu Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin, mesurer le pH par potentiométrie à température ambiante et s'assurer qu'il est conforme à la spécification de 7,4 ± 0,2.
4. Incuber des tubes représentatives non ensemencées entre 33 et 37 °C et entre 20 et 25 °C et les examiner après 72 h pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS SUR LE PRODUIT

IV APPLICATION

Ces milieux servent à l'isolement qualitatif et à la culture des champignons pathogènes et non pathogènes à partir d'échantillons cliniques et non cliniques.

V RESUME ET EXPLICATION

La Brain Heart Infusion (BHI) Agar est un milieu polyvalent servant à l'isolement primaire des champignons.¹ L'ajout de sang de mouton est recommandé pour favoriser la mise en évidence des champignons dimorphes pathogènes.¹

Des agents antimicrobiens, comme le chloramphénicol, le chloramphénicol associé au cycloheximide (CC) et la gentamicine sont incorporés pour favoriser la mise en évidence des champignons pathogènes à partir d'échantillons fortement contaminés par des bactéries et des champignons saprophytes.¹

VI PRINCIPES DE LA METHODE

La BHI Agar se compose d'infusions de tissus de cœur et de cervelle, de peptones et de dextrose qui apportent les nutriments nécessaires à la croissance des champignons. Le sang de mouton défibriné fournit des nutriments supplémentaires qui permettent l'isolement et la culture des espèces dimorphes.

En inhibant la croissance des bactéries, les agents antimicrobiens ajoutés à la BHI Agar favorisent la mise en évidence des champignons pathogènes à partir d'échantillons cliniques. La gentamicine inhibe les bactéries à Gram négatif. Le chloramphénicol est un antibiotique à spectre étendu qui inhibe les bactéries à Gram positif et Gram négatif. Le cycloheximide est un agent antifongique, principalement actif contre les saprophytes, qui n'inhibe pas la croissance des levures ou des dermatophytes.

VII REACTIFS

BHI Agar

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Infusion cœur cervelle (matières solides).....	8,0 g
Digestion peptique de tissu animal	5,0 g
Digestion pancréatique de caséine	16,0 g
Dextrose.....	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate disodique.....	2,5 g
Gélose	13,5 g

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

La **BHI Sheep Blood Agar** se compose des ingrédients ci-dessus auxquels s'ajoutent 5 % de sang de mouton défibriné par litre.

La **BHI Sheep Blood Agar with Chloramphenicol and Gentamicin** se compose de BHI Agar complétée de 0,05 g/L de chloramphénicol, 0,05 g/L de gentamicine et 10% de sang de mouton défibriné par litre.

La **Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin** se compose de BHI Agar complétée de 0,05 g/L de chloramphénicol, 0,5 g/L de cycloheximide, 0,05 g/L de gentamicine et 10 % de sang de mouton par litre.

Avertissements et précautions : Pour le diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Des microorganismes pathogènes, y compris les virus d'hépatite et celui de l'immunodéficiência humaine, peuvent être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »²⁻⁵ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. Stériliser à l'autoclave les récipients contenant les échantillons et autres produits contaminés avant de les mettre au rebut.

Instructions pour la conservation : Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité conformément aux instructions de la notice. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas les ouvrir prématurément. Les maintenir à l'abri de la lumière. Conservé comme indiqué sur l'étiquette jusqu'au moment de l'utilisation, le milieu en tube peut être ensemencé jusqu'à la date de péremption et incubé jusqu'à 6 semaines. Laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante avant de l'ensemencer.

Détérioration du produit : Ne pas utiliser les tubes s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration, précipitation ou évaporation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes de prélèvement et de préparation des échantillons.^{1,6-8}

IX METHODE

Matériel fourni : Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood, Brain Heart Infusion Agar with 10% Sheep Blood, Chloramphenicol and Gentamicin, ou Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin

Matériaux requis mais non fournis : Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test : Respecter les techniques d'asepsie.

Ensemencer le milieu dès que possible après réception de l'échantillon au laboratoire. A l'aide d'un ensementeur à anse stérile, strier le milieu avec l'échantillon pour obtenir des colonies isolées. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur le traitement et l'ensemencement des échantillons tels que biopsies, squames, cheveux, rognures d'ongles, etc.^{1,6-9}

Pour isoler des champignons responsables de mycoses cutanées, un milieu polyvalent non sélectif et un milieu sélectif doivent être ensemencés en parallèle. Incuber un jeu de tubes entre 25 et 30 °C et un double du jeu entre 35 et 37 °C. Examiner les cultures au moins une fois par semaine pour déceler une croissance éventuelle et les maintenir pendant 4 à 6 semaines avant de conclure à un test négatif.

Contrôle de qualité par l'utilisateur : Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA correspondantes pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

X RESULTATS

Examiner le milieu pour déceler une croissance éventuelle en notant la couleur et la morphologie des colonies de champignons.

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Pour procéder à l'identification, le microorganisme doit se trouver en culture pure. L'identification définitive nécessite des tests morphologiques, nutritionnels, biochimiques et/ou sérologiques. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.⁶⁻¹¹

Un milieu unique est habituellement insuffisant pour détecter l'ensemble des microorganismes d'importance clinique éventuellement présents dans un échantillon. Les agents présents dans les milieux sélectifs sont susceptibles d'inhiber la croissance de certaines souches des espèces dépistées et de favoriser la croissance d'espèces censées être inhibées, notamment lorsqu'elles sont largement représentées dans l'échantillon. Les échantillons cultivés sur des milieux sélectifs doivent, par conséquent, être également cultivés sur des milieux non sélectifs pour recueillir des informations complémentaires et faciliter la mise en évidence de pathogènes éventuels.

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood

Les caractéristiques de performances de tous les lots de Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood sont testées en usine. Samples of the lot are tested with *Blastomyces dermatitidis* ATCC 56218, *Candida albicans* ATCC 60193 and *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, inoculated directly by streaking the surface of the medium. Les tubes ensemencés sont incubés, avec les bouchons desserrés, entre 20 et 27 °C jusqu'à 7 jours. Tous les microorganismes présentent une croissance modérée à importante.

Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin

Les caractéristiques de performances de tous les lots de Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin sont testées en usine. Des échantillons du lot sont testés avec *Blastomyces dermatitidis* ATCC 56218, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, ensemencés directement par striage de la surface du milieu (pour *C. albicans* et *E. coli*, diluer avec du sérum physiologique à une concentration finale de 10³ à 10⁴ UFC). Les tubes ensemencés sont incubés, avec les bouchons desserrés, entre 20 et 27 °C jusqu'à 7 jours. *B. dermatitidis*, *C. albicans* et *T. mentagrophytes* présentent une croissance modérée à importante. La croissance d'*E. coli* est partiellement voire totalement inhibée.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
---------	-------------

297199	BD BBL Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood Slants, coffret de 10 tubes de taille A CE
296067	BD BBL Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood Slants, carton de 100 tubes de taille A
295756	BD BBL Brain Heart Infusion Agar with 10% Sheep Blood, Chloramphenicol and Gentamicin Slants, carton de 100 tubes de taille A
296358	BD BBL Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin Slants, coffret de 10 tubes de taille A

XIV REFERENCES

1. Merz, W.G., and G.D. Roberts. 1995. Detection and recovery of fungi from clinical specimens, p. 709-721. 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.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
3. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
4. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
5. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
6. Haley, L.D., H. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech 11, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical mycology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
9. R.C. and J. Kane. 1999. *Trichophyton*, *Microsporium*, *Epidermophyton*, and agents of superficial mycoses, p.1275-1294. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Larone, D.H. 1987. Medically important fungi: a guide to identification, 2nd ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
11. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. Mycology, p. 983-1069. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 5th ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com/ds.

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

 Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD