



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Ce milieu sert à la culture des dermatophytes et d'autres 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. Pour Trichophyton mentagrophytes ATCC 9533 et Aspergillus brasiliensis ATCC 16404, à l'aide d'une anse de 0,01 mL, ensemencer directement avec une culture préparée sur BBL Sabouraud Dextrose Agar.
b. Pour Candida albicans ATCC 10231 et Escherichia coli ATCC 25922 ensemencer à l'aide des suspensions de 0,01 mL de sérum physiologique diluées à 10^3 - 10^4 UFC.
2. Incuber les tubes, avec les bouchons desserrés, entre 25 et 30 °C pendant 7 jours au maximum, en atmosphère aérobie.
3. Résultats attendus

Table with 3 columns: Microorganismes, ATCC, Récupération. Rows include Candida albicans, Trichophyton mentagrophytes, Aspergillus brasiliensis, and Escherichia coli.

*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. Mesurer le pH par potentiométrie à température ambiante et s'assurer qu'il est conforme à la spécification de 5,6 ± 0,2.
4. Incuber des échantillons représentatifs non ensemencés entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C, et les examiner après 7 jours pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS SUR LE PRODUIT

IV APPLICATION

Ce milieu est utilisé dans des méthodes de culture qualitatives des dermatophytes et d'autres champignons pathogènes et non pathogènes à partir d'échantillons cliniques et non cliniques.

V RESUME ET EXPLICATION

La gélose Sabouraud Dextrose Agar est un milieu polyvalent servant à la culture des dermatophytes. Sa faible pH d'environ 5,6 favorise la croissance des champignons, en particulier celle des dermatophytes, et inhibe la croissance des bactéries contaminantes présentes dans les échantillons cliniques.

Le pH acide de ce milieu peut, cependant, inhiber la croissance de certaines espèces de champignons. L'ajout d'agents antimicrobiens favorise la mise en évidence des champignons pathogènes à partir d'échantillons fortement contaminés par des bactéries et des champignons saprophytes.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

La Sabouraud Dextrose Agar est un milieu peptoné complété de dextrose pour permettre la croissance des champignons. L'ajout d'antibiotiques et d'agents antifongiques réduit la croissance des bactéries et des champignons saprophytes, qui interfèrent avec la mise en évidence des dermatophytes et des champignons responsables de mycoses systémiques. Le chloramphénicol est un antibiotique à spectre étendu qui inhibe un grand nombre de bactéries à Gram positif ou 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

Sabouraud Dextrose CC Agar

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Table listing ingredients and quantities: Digestion pancréatique de caséine (5,0 g), Digestion peptique de tissu animal (5,0 g), Dextrose (40,0 g), Gélose (15,0 g), Chloramphénicol (0,05 g), Cyclohexamide (0,5 g).

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

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, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »⁴⁻⁷ 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 tubes préparés, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation : Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité entre 2 et 8 °C. Eviter de congeler ou de 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 le milieu s'il présente des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, 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.⁸⁻¹¹

IX METHODE

Matériaux fournis : Sabouraud Dextrose CC Agar

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 ensemenceur à anse stérile, strier le milieu avec l'échantillon. 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.^{3,8-11}

Pour isoler des champignons responsables de mycoses cutanées, un milieu non sélectif et un milieu sélectif doivent être ensemencés en parallèle. Incuber les tubes à 25 à 30 °C.

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

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux méthodes 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 les tubes au moins une fois par semaine pour déceler une croissance fongique éventuelle. Les cultures doivent être maintenues pendant 4 à 6 semaines avant de conclure à un test négatif.

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

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.

Pour procéder à l'identification, le microorganisme doit se trouver en culture pure. L'identification définitive nécessite des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques. Pour plus d'informations, et pour connaître les procédures recommandées, consulter les publications citées en référence.^{3,8,9,11-13}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Tous les lots de Sabouraud Dextrose CC Agar sont testés en usine afin de vérifier la conformité des performances avec les spécifications. Des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés directement avec des souches *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 et *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 cultivées sur **BBL** Sabouraud Dextrose Agar. Des échantillons sont également testés avec des suspensions en sérum physiologique d'*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Candida albicans* ATCC 10231 diluées à 10³ – 10⁴ UFC. Les tubes sont incubés avec les bouchons desserrés, entre 25 et 30 °C pendant 7 jours au maximum, en atmosphère aérobie. *T. mentagrophytes* et *C. albicans* présentent une croissance moyenne à importante. La croissance d'*A. brasiliensis* et d'*E. coli* est partiellement voire totalement inhibée.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
297649	BD BBL Sabouraud Dextrose CC Agar, coffret de 10 géloses inclinées en tubes de taille A

XIV REFERENCES

1. Sabouraud, R. 1910. Les teignes, p. 553. Masson et Cie, Paris.
2. 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.
3. 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. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
5. 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.
6. 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.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from the risks related to exposure to the 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.
8. 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.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. Merz, W.G., and G.D. Roberts. 1995. Detection and recovery of fungi from clinical specimens, p. 709-722. 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.
11. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
12. Larone, D.H. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1992. Mycology, p. 791-877. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 4th ed., J.B. Lippincott Co., 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 BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD.