

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE (Facultatif)

I INTRODUCTION

La **Mycosel** Agar est un milieu sélectif d'isolement des champignons pathogènes à partir de prélèvements contaminés par des flores mixtes d'autres champignons et bactéries.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. A l'aide d'un ensemenceur à anse calibrée de 0,01 mL, ensemencer les récipients avec des cultures en bouillon de culture de champignons (âgées de 7 jours au plus) et avec des dilutions au 1/10 de cultures de la souche *Escherichia* âgées de 18 à 24 h.
 - b. Incuber les récipients, avec les bouchons desserrés, à 25 ± 2 °C en atmosphère aérobie.
 - c. Inclure un Sabouraud au dextrose gélosé incliné comme contrôle non sélectif pour toutes les souches de champignons et des géloses inclinées de **Trypticase** Soy Agar comme contrôles de croissance pour la souche *Escherichia*.
2. Examiner les récipients pour déceler une croissance éventuelle jusqu'à 7 jours.
3. Résultats attendus

Souches de contrôle CLSI (souches ATCC)

* <i>Candida albicans</i> (10231)	Croissance
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (9533)	Croissance
* <i>Escherichia coli</i> (25922)	Inhibition (partielle à complète)
* <i>Aspergillus niger</i> (16404)	Inhibition (partielle à complète)

Souche supplémentaire utilisée :

Penicillium roquefortii Inhibition (partielle)
ATCC 9295

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

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes, les flacons, les fioles ou les flacons **Mycoflask** comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des échantillons représentatifs des tubes, flacons, fioles ou flacons **Mycoflask** pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Incuber des échantillons représentatifs non ensemencés des tubes, flacons, fioles ou flacons **Mycoflask** entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C, et les examiner après 7 jours pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

La **Mycosel** Agar (gélose **Mycosel**) est un milieu hautement sélectif contenant du cycloheximide et du chloramphénicol. Il est préconisé pour l'isolement de champignons pathogènes à partir de prélèvements fortement contaminés par des flores mixtes d'autres champignons et bactéries.^{1,2}

V RESUME ET EXPLICATION

La **Mycosel** Agar reprend la base nutritive de la gélose **Mycophil** Agar, à laquelle s'ajoutent le cycloheximide et le chloramphénicol comme agents sélectifs. Elle est largement utilisée pour l'isolement des champignons à partir de sources diversifiées et préconisée pour l'isolement des dermatophytes.³

VI PRINCIPES DE LA METHODE

La peptone préparée à partir de semoule de soja est la source de nutriments de la **Mycosel Agar**. Le dextrose est une source d'énergie que les champignons peuvent métaboliser. Le cycloheximide inhibe la plupart des moisissures saprophytes. Le chloramphénicol est un antibiotique à spectre étendu qui inhibe un grand nombre de bactéries à Gram positif ou Gram négatif.

VII REACTIFS

Mycosel Agar

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion papaïque de semoule de soja	10,0	g
Dextrose	10,0	g
Gélose	15,5	g
Cycloheximide	0,4	g
Chloramphénicol	0,05	g

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

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes, flacons et fioles 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. Après utilisation, 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, les flacons et les fioles dans l'obscurité, à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Maintenir à l'abri de la lumière. Ne pas ouvrir prématurément. Les milieux conservés comme indiqué sur l'étiquette peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption et incubés pendant les durées d'incubation recommandées. Laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante avant de l'ensemencer.

Détérioration du produit

Ne pas utiliser les milieux s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons adaptés à la culture peuvent être manipulés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.¹⁻³ Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX METHODE

Matériaux fournis

Mycosel 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.

Strier avec l'échantillon dès que possible après réception au laboratoire. A l'aide d'un ensemencement 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.¹⁻³

Pour isoler des champignons à partir d'échantillons possiblement contaminés, un milieu non sélectif doit être ensemencé parallèlement au milieu sélectif. Incuber les récipients entre 25 et 30 °C en atmosphère plus humide.

Pour isoler des champignons responsables de mycoses systémiques, deux jeux de milieux doivent être ensemencés en parallèle, l'un étant incubé à 25 à 30 °C et l'autre à 35 ± 2 °C. Les cultures doivent être examinées au moins une fois par semaine pour déceler une croissance éventuelle de champignons et maintenues pendant 4 à 6 semaines avant de conclure à un test négatif.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Chaque lot de milieu a été testé à l'aide des organismes de contrôle de qualité adaptés et ces tests sont conformes aux spécifications du produit, ainsi qu'aux normes CLSI, lorsqu'elles sont applicables. Comme toujours, les tests de CQ doivent être réalisés conformément aux réglementations locales, régionales, nationales ou internationales, aux exigences d'accréditation et/ou aux protocoles de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement.

X RESULTATS

Après une incubation suffisante, on doit observer des colonies isolées dans les parties striées du milieu et une croissance agglomérée dans les zones fortement ensemencées.

Examiner les récipients pour déceler des colonies de champignons de couleur et de morphologie typiques.⁸ Des tests biochimiques et sérologiques doivent être effectués pour confirmer l'identification.

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

La croissance de certains champignons peut être inhibée par les antibiotiques présents dans ce milieu.⁹

Pour procéder à l'identification, les microorganismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.^{1-3,8,9}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Tous les lots de géloses inclinées, de fioles et de flacons de **Mycosel** Agar sont testés en usine afin d'établir leurs caractéristiques de performances. A l'aide d'un ensementeur à anse calibrée de 0,01 mL, des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés par striage avec des cultures de *Candida albicans* (ATCC 10231), *Penicillium roquefortii* (ATCC 9295), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) en bouillon de culture de champignons, avec une suspension de spores d'*Aspergillus niger* (ATCC 16404) diluée à la concentration finale de 50 à 300 unités formant colonies (UFC) par pleine anse, et avec une culture d'*Escherichia coli* (ATCC 25922) en **Trypticase** Soy Broth diluée au 1/10. Après ensemencement, les cultures sont examinées à 25 ± 2 °C après 2, 5 et 7 jours d'incubation pour déceler une éventuelle croissance et l'apparition de colonies pigmentées. *C. albicans* présente une croissance moyenne à importante et des colonies de couleur blanche à crème. *T. mentagrophytes* présente une croissance moyenne à importante et des colonies de couleur blanche. La croissance de *P. roquefortii*, *A. niger* et *E. coli* est légère, voire totalement inhibée.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
220966	BD BBL Mycosel Agar Slants, coffret de 10 tubes de tailles A
220967	BD BBL Mycosel Agar Slants, carton de 100 tubes de tailles A
221130	BD BBL Mycosel Agar, coffret de 10 flacons Mycoflask.

XIV RÉFÉRENCES

1. Weitzman, Kane and Summerbell. 1995. 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. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, 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. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th 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 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.
8. 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.
9. Larone. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

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