



BBL Sabouraud Dextrose Agar
BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol
L007492 • Rev. 12 • Octobre 2015

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE (Facultatif)

I INTRODUCTION

La Sabouraud Dextrose Agar est un milieu non sélectif servant à la culture et la conservation des champignons pathogènes et non pathogènes, notamment les dermatophytes. La sélectivité est obtenue par l'ajout du chloramphénicol.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Liquéfier les tubes A avec Sabouraud Dextrose Agar Deep (gélose de Sabouraud au dextrose) en les faisant bouillir dans un bain-marie.* Laisser refroidir jusqu'à 45 – 50 °C, puis verser dans les boîtes de Pétri et laisser prendre pendant au moins 30 min.

***REMARQUE :** Il n'est pas recommandé d'utiliser un four à micro-ondes.

2. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Strier la surface de la gélose à l'aide d'une anse calibrée de 0,01 mL avec des cultures en bouillon de champignons (âgées de 7 jours maximum). Pour *Escherichia coli*, ensemencer en utilisant une anse pleine d'une dilution à 10⁻¹ d'une culture en bouillon *Trypticase* Soja, âgée de 18 à 24 heures.
 - b. Incuber les récipients à essai, en atmosphère aérobie, à une température de 25 à 30 °C. Les bouchons des tubes et flacons contenant le milieu doivent être desserrés.
 - c. Incorporer des géloses Sabouraud Dextrose Agar inclinées pour qu'elles jouent le rôle de contrôles non sélectifs lorsque les milieux Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol sont testés.

REMARQUE : Travailler avec *A. brasiliensis* (ATCC 16404) dans une hotte biologique de sécurité.

3. Examiner les récipients pendant 7 jours maximum afin de contrôler la croissance, la pigmentation et la sélectivité du milieu contenant le chloramphénicol.
4. Résultats attendus

Sabouraud Dextrose Agar

Organismes de contrôle du CLSI (souches ATCC)

**Candida albicans* (60193)..... Croissance au bout de 72 h

**Trichophyton mentagrophytes* (9533) Croissance au bout de 72 h

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

**Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 Croissance

**Candida albicans* ATCC 10231 Croissance

**Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 Croissance

**Escherichia coli* ATCC 25922 Inhibition (partielle ou totale)

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

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes ou les flacons comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Examiner visuellement des tubes ou flacons représentatifs pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Déterminer le pH par potentiométrie à température ambiante afin de respecter la spécification de 5,6 ± 0,2.
4. Incuber les tubes ou les flacons d'échantillons non ensemencés dans une atmosphère allant de 20 à 25 °C et de 30 à 35 °C pendant 7 jours, puis examiner la contamination microbienne.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

La Sabouraud Dextrose Agar (gélose de Sabouraud au dextrose) est utilisée dans des procédures qualitatives de culture des dermatophytes. L'ajout du chloramphénicol donne un milieu plus sélectif pour les champignons.

V RESUME ET EXPLICATION

La Sabouraud Dextrose Agar est un milieu à usages multiples conçu par Sabouraud pour la culture des dermatophytes.¹ Son faible pH (5,6 environ) favorise la croissance des champignons (notamment les dermatophytes) et inhibe légèrement les bactéries contaminantes dans les échantillons cliniques.^{2,4} Sa modification par ajout de chloramphénicol vise à accroître l'inhibition bactérienne et à isoler les champignons opportunistes des échantillons contaminés qui génère des infections cliniques semblables à la dermatophytose mais sont sensibles à la cycloheximide présente dans certains milieux sélectifs de culture de champignons.^{3,4}

VI PRINCIPES DE LA METHODE

La Sabouraud Dextrose Agar est un milieu peptone complété au dextrose pour encourager la croissance des champignons. Les peptones sont des sources de facteurs de croissance azotés. Le dextrose fournit une source d'énergie pour

la croissance des microorganismes. Ajouté à la formulation, le chloramphénicol est un antibiotique à large spectre, inhibiteur pour une large gamme de bactéries Gram positives et Gram négatives.⁵

VII REACTIFS

Sabouraud Dextrose Agar

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	5,0 g
Digestion peptique de tissu animal	5,0 g
Dextrose	40,0 g
Gélose	15,0 g

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

En plus des ingrédients répertoriés ci-dessus, la Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol contient 0,05 g de chloramphénicol.

Avertissements et précautions

Réservé au 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 »⁶⁻⁹ 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 à 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. Conservés comme indiqué sur l'étiquette, les milieux en tube peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption et incubés pendant les durées d'incubation recommandées, soit jusqu'à 6 semaines pour les milieux pour la mycologie. 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 ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons adaptés à la mise en culture peuvent être manipulés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{10,11} Prélever les échantillons avant l'administration des agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

Sabouraud Dextrose Agar ou

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

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.

Liquéfier la gélose contenue dans les A tubes en les faisant bouillir au bain-maire*, laisser refroidir jusqu'à 45 – 50 °C et verser dans les boîtes de Pétri. La laisser se solidifier pendant au moins 30 min.

Dans le cas des boîtes et des flacons, dès que possible après réception au laboratoire, strier l'échantillon avec une anse d'ensemencement stérile afin d'obtenir des colonies isolées. Les informations relatives au traitement et à l'ensemencement des échantillons cliniques sont données dans les documents cités en référence.^{3,4}

Les géloses inclinées en tubes préparées sont principalement conçues pour être utilisées avec des cultures pures à des fins de conservation ou autre.

Le milieu peut être ensemencé jusqu'à la date de péremption et incubé pendant 6 semaines.

Afin d'isoler les champignons des échantillons susceptibles d'être contaminés, ensemencer un milieu sélectif en même temps que le milieu non sélectif. Incuber les récipients à une température comprise entre 25 et 30 °C à une humidité élevée. Vérifier la présence d'une croissance de champignons sur toutes les cultures au moins une fois par semaine. Le test est négatif si aucune croissance n'est observée au bout de 4 à 6 semaines.

***REMARQUE :** Il n'est pas recommandé d'utiliser un four à micro-ondes.

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.

Une seule électrode d'une taille suffisamment petite pour tenir dans les tubes devrait être utilisée pour déterminer par potentiométrie le pH des milieux en tubes ou en flacons de la marque **Mycoflask**. L'extrémité de l'électrode doit pénétrer jusque dans la portion centrale de la masse de gélose dans le cas de milieux solides ou semi-solides.

X RESULTATS

Lorsqu'un délai d'incubation suffisant est atteint, les récipients doivent présenter des colonies isolées dans les zones striées et une croissance confluyente dans les zones d'inoculation importante.

Pour obtenir des cultures pures de champignons, il peut s'avérer nécessaire de transférer la croissance des milieux inclinés vers les milieux en boîtes de Pétri.

Examiner les récipients afin de détecter la présence de colonies de champignons présentant une morphologie microscopique et coloniale type.^{4,12} Vérifier les résultats en effectuant des tests biochimiques et sérologiques.

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Certains champignons (*Blastomyces dermatitidis*, par exemple) peuvent ne pas être récupérés dans ce milieu en raison du taux de glucides élevé de celui-ci.¹³

Pour procéder à l'identification, les organismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Pour plus d'informations, et pour connaître les procédures recommandées, consulter les publications citées en référence.^{10,11}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Sabouraud Dextrose Agar

Tous les lots de Sabouraud Dextrose Agar sont soumis à des tests en usine permettant d'évaluer les caractéristiques de leurs performances. A l'aide d'une anse calibrée de 0,01 mL, ensemercer en stries des échantillons représentatifs du lot avec des cultures fraîches de bouillon de champignons contenant des *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) et des *Candida albicans* (ATCC 60193). Contrôler la croissance et la pigmentation de la colonie après 2, 5 et 7 jours d'incubation à une température comprise entre 25 et 30 °C. Les *C. albicans* présentent une croissance faible à forte avec des colonies de couleur blanche à crème. Les *T. mentagrophytes* présentent une croissance faible à forte avec des colonies de couleur blanche, crème et brun clair.

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

Tous les lots de récipients de Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol sont soumis à des tests en usine permettant d'évaluer les caractéristiques de leurs performances. A l'aide d'une anse calibrée de 0,01 mL, ensemercer en stries les échantillons représentatifs du lot avec des cultures fraîches de bouillon de champignons contenant des *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), des *Candida albicans* (ATCC 60193), des *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) et une culture de **Trypticase** Soy Broth d'*Escherichia coli* (ATCC 25922). Contrôler la croissance et la pigmentation de la colonie après 2, 5 et 7 jours d'incubation à une température comprise entre 25 et 30 °C. Les *C. albicans* présentent une croissance faible à forte avec des colonies de couleur blanche à crème. Les *T. mentagrophytes* présentent une croissance faible à forte avec des colonies de couleur blanche. *A. brasiliensis* présente une croissance faible à forte avec des colonies de couleur marron à noire. La croissance de *E. coli* est soit légère soit complètement inhibée.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221012	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, boîte de 10 tubes de taille A
221013	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, carton de 100 tubes de taille A
296182	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Deepes (Pour Tubes), 20 mL, carton de 100 tubes de taille A
221136	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar, flacons Mycoflask , boîte de 10
221825	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol Slants, carton de 100 tubes de taille A
221314	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol, flacons Mycoflask , boîte de 10

XIV REFERENCES

1. Sabouraud, R. 1892. Contribution à l'étude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bactériologique sur la pluralité des trichophytes de l'homme. Ann. Dermatol. Syphil. 3:1061-1087.
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. Haley, L.D., J. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech II, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical microbiology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Kane, J., and R.C. Summerbell. 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.
5. Lorian, V. (ed.) 1991. Antibiotics in laboratory medicine, 3rd ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
7. 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.
8. 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.
9. 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.

10. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenenbaum (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
12. Larone, D.H. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Flores, M., and D. Welch. 1992. Mycology. Culture media, p. 6.7.1.-6.7.3. *In* H.D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol.1. 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