

## **BD Mycosel Agar • BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide**

### **APPLICATION**

La **BD Mycosel Agar** (gélose Mycosel) et la **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide** (gélose Sabouraud avec chloramphénicol et cycloheximide) sont des milieux hautement sélectifs permettant d'isoler des champignons pathogènes à partir de matériaux comportant une flore abondante d'autres champignons et bactéries. Il ne s'agit pas de milieux polyvalents permettant d'isoler tous les champignons (moisissures et levures saprophytes comprises).

### **PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE**

Méthode microbiologique.

La **BD Mycosel Agar** est basée sur une gélose **Mycophil Agar**, milieu servant à la culture, à la mise en évidence chromogène et à la conservation des champignons.<sup>1</sup>

La **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide** est basée sur la gélose au glucose de Sabouraud, milieu polyvalent formulé par Sabouraud pour la culture des dermatophytes.<sup>2</sup> Le faible pH (5,6 environ) et la forte concentration en glucose favorisent le développement de tous les champignons.<sup>1,3</sup>

La **BD Mycosel Agar** et la **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide** contiennent des éléments nutritifs fournis par les peptones. Le glucose constitue la source d'énergie.

Le cycloheximide est utilisé dans divers milieux d'isolement de champignons pathogènes en tant qu'inhibiteur de certains champignons non pathogènes comme les moisissures saprophytes et les levures. Il est particulièrement utile pour l'isolement des dermatophytes.<sup>4</sup> La pathogénicité des champignons et l'état immunitaire des patients pouvant varier, il convient d'être vigilant lorsque seul un milieu contenant du cycloheximide est utilisé pour isoler des champignons, faute de quoi certains champignons opportunistes peuvent passer inaperçus.<sup>5,6</sup>

Le chloramphénicol est un antibiotique à large spectre, inhibiteur pour une large gamme de bactéries Gram positives et Gram négatives mais pouvant avoir un effet inhibiteur sur plusieurs champignons pathogènes.<sup>1</sup>

Les géloses **BD Mycosel Agar** et **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide** sont très semblables en termes de composition et de sélectivité, mais la seconde présente un pH plus faible, ce qui peut être un avantage lors de l'isolement de champignons tolérants à l'acide, mais un inconvénient lors de celui de champignons préférant un pH plus élevé.

Ces milieux sont utilisés pour isoler des champignons à partir d'échantillons ou de matières cliniques présumés contenir des contaminants bactériens et fongiques.

### **REACTIFS**

Formules\* par litre d'eau purifiée

<b>BD Mycosel Agar</b>		<b>BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide</b>	
Digestion papaïque de semoule de soja	10,0 g	Digestion pancréatique de caséine	5,0 g
Glucose	10,0	Digestion peptique de tissu animal	5,0
Cycloheximide	0,4	Glucose	40,0
Chloramphénicol	0,05	Chloramphénicol	0,05
Gélose	15,5	Cycloheximide	0,4
pH	6,9 ± 0,2	Gélose	23,5
		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 les boîtes si elles présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

Consulter le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** » pour connaître les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques, ainsi que les méthodes d'élimination des produits utilisés.

## 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 leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.

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.

## CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer les échantillons représentatifs avec les souches ci-dessous (pour plus d'informations, voir le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** »). Lire la note en bas de page relative à l'incubation.

Souches	BD Mycosel Agar	BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide
* <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Croissance bonne à importante	Croissance bonne à importante
*** <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533	Croissance bonne à importante	Croissance bonne à importante
** <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Inhibition partielle à complète	Inhibition partielle à complète
** <i>Saccharomyces cerevisiae</i> DSM 1333	Inhibition complète	Inhibition complète
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition complète	Inhibition complète
* <i>Staphylococcus aureus</i> 25923	Inhibition complète	Inhibition complète

Incubation : \*48 h / \*\*3 à 4 jours / \*\*\*5 à 7 jours, 25 à 28 °C, atmosphère aérobie

## METHODE

### Matériaux fournis

**BD Mycosel Agar** ou **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide**, fournies en boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm. Produit soumis à contrôle microbiologique.

### Matériaux non fournis

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

### Types d'échantillons

Les milieux décrits dans ce document servent à l'isolement de champignons pathogènes, particulièrement mais pas uniquement à partir d'échantillons dermatologiques (voir également la rubrique « **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE** »).

### Mode opératoire du test

Ensemencer l'échantillon par striation sur **BD Mycosel Agar** ou **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide** dès que possible après réception en laboratoire. La boîte d'étalement sert principalement à isoler les cultures pures à partir d'échantillons contenant des flores mixtes. Si la matière doit être cultivée directement à partir d'un écouvillon, rouler ce dernier sur une petite surface de la boîte de Pétri près du bord, puis strier l'échantillon depuis cette zoneensemencée.

- Si l'échantillon se compose de prélèvements cutanés, de cheveux ou d'ongles, déposer la matière au centre du milieu. Les particules épaisses doivent si possible être légèrement pressées sur la surface à l'aide d'une pince stérile pour assurer le contact avec le milieu.
- Pour isoler des champignons responsables de mycoses systémiques, deux jeux de milieux doivent être ensemencés en parallèle, l'un incubé à une température comprise entre 25 et 30 °C et l'autre entre 35 et 37 °C.
- Il est recommandé d'inclure une boîte de Pétri contenant une **BD Sabouraud Glucose Agar** de manière à déceler la présence de tous les pathogènes fongiques présents dans l'échantillon.
- Il peut s'avérer nécessaire d'ensemencer un milieu non sélectif tel qu'une Columbia Agar with 5 % Sheep Blood pour déceler la présence d'agents pathogènes bactériens dans l'échantillon.

Si ce milieu est utilisé pour la détection de levures (p. ex. *Candida* sp.) dans des échantillons cliniques, incuber pendant 48 h entre 30 et 35 °C. Si la matière est susceptible de contenir des champignons filamenteux, notamment des dermatophytes, incuber pendant une semaine (au maximum) entre 25 et 30 °C. Dans certains cas, le développement des dermatophytes ne se produit qu'après 3 semaines d'incubation, voire plus. Si la durée d'incubation dépasse les 3 jours, humidifier en conséquence. Les boîtes de Pétri peuvent être scellées avec du ruban adhésif afin d'éviter tout dessèchement.

### Résultats

Après une durée d'incubation suffisante, les boîtes de Pétri doivent présenter des colonies isolées au sein des zones striées, ainsi qu'une croissance agglomérée dans les zones à inoculation importante.

Rechercher dans les boîtes de Pétri des colonies de champignons présentant une morphologie et une couleur caractéristiques. Il convient d'effectuer des tests biochimiques et de procéder à des analyses microscopiques et sérologiques afin de confirmer les résultats.<sup>4-7</sup>

En raison du très grand nombre de champignons existants, aucun détail ne peut être fourni ici quant à leur morphologie. Consulter les documents cités en référence.<sup>3-9</sup>

### CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

Ces milieux sont utilisés pour isoler les champignons pathogènes à partir d'échantillons présentant une flore fortement contaminée. Du fait de la longue période d'incubation requise pour l'isolement des dermatophytes (qui, sur des milieux moins sélectifs, permet à des contaminants indésirables de se développer en abondance), ces milieux sont particulièrement utiles pour l'isolement des champignons *Trichophyton* sp., *Microsporum* sp. et de nombreuses autres espèces à partir d'échantillons d'infections de la peau. Ils peuvent aussi servir à l'isolement de *Candida albicans* et de plusieurs autres *Candida* spp.

La croissance de certains champignons pathogènes peut être inhibée par les antimicrobiens présents dans ce milieu. Par conséquent, la **BD Sabouraud Glucose Agar** doit également être ensemencée si des milieux contenant du chloramphénicol et/ou du cycloheximide sont utilisés.

Les moisissures (p. ex. *Aspergillus* sp.) et diverses espèces de levures sont souvent considérées comme étant non pathogènes, mais peuvent occasionnellement provoquer des infections chez des patients immunocompromis et gravement malades. En général, ces champignons ne se développent pas dans les milieux contenant du cycloheximide. Des milieux fongiques exempts de cet inhibiteur doivent donc être inclus.

Compte tenu de la large plage de températures dans laquelle les champignons se développent, il peut s'avérer nécessaire d'ensemencer plusieurs boîtes et de les incuber à différentes températures. Consulter la rubrique « **Mode opératoire du test** » et les documents cités en référence.<sup>5-9</sup>

*Nocardia* et *Actinomyces* sont des bactéries filamenteuses et non des champignons. Par conséquent, elles ne se développent dans aucun des milieux Sabouraud contenant des inhibiteurs de bactéries comme le chloramphénicol.

## REFERENCES

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria. vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Sabouraud, R. 1892. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralité des trichophyton de l'homme. Ann. Dermatol. Syphil. 3: 1061-1087.
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. Haley, L.D., J. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech 11, 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.
5. Sutton, D.A. 2003. Specimen collection, transport, and processing: mycology. *In*: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Summerbell, R.C. 2003. *Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton*, and agents of superficial mycoses. *In*: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup>ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Larone, D.H. 2002. Medically important fungi: a guide to identification. 4<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
9. Fromling, R.A. 1995. Mycology. *In*: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

## CONDITIONNEMENT

### BD Mycosel Agar

N° réf. 254417

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités

### BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide

N° réf. 255504

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités

## INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.



### Becton Dickinson GmbH

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

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, logo, Mycosel, Mycophil and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company

© 2012 BD