

GÉLOSE SABOURAUD DEXTROSE + CHLORAMPHÉNICOL + GENTAMYCINE

NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRECOULES PRÊTS A L'EMPLOI

1. Utilisation prévue

La gélose Saboraud Dextrose + Chloramphénicol + Gentamycine est un milieu sélectif utilisé pour la détection qualitative et l'isolement des dermatophytes et d'autres champignons, y compris les moisissures et les levures dans les échantillons cliniques humains et non humains. Le milieu est recommandé pour tester les échantillons qui contiennent une flore bactérienne mixte, tels que les expectorations, les selles et les échantillons de surface de la peau .

La fonction du milieu Saboraud Dextrose + Chloramphénicol + Gentamycine est d'aider au diagnostic chez les patients présentant des symptômes d'une infection fongique potentielle.

Les champignons sont des agents pathogènes opportunistes. La fréquence des mycoses invasives a augmenté de manière significative au cours des dernières décennies, ainsi que la morbidité et la mortalité qui en résultent, ce qui est directement lié à l'augmentation de la population de patients vulnérables aux infections fongiques graves. Les groupes à haut risque comprennent: les patients recevant des transfusions sanguines ou des greffes, les patients subissant des interventions chirurgicales majeures, les patients atteints du SIDA, les patients atteints d'un cancer, les patients recevant une thérapie immunosuppressive, ainsi qu'un grand nombre de patients gériatriques et de nouveau-nés prématurés.

Parmi les champignons pathogènes pour l'homme qui provoquent des mycoses invasives, les espèces les plus fréquemment isolées sont *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus*. En outre, de nombreuses autres espèces sont responsables de mycoses de la peau et de ses annexes, ainsi que des muqueuses du système digestif et du tractus génital.

Compte tenu de la diversité des groupes de patients à risque et de la variété des champignons pathogènes, les infections fongiques opportunistes représentent un défi diagnostique et thérapeutique majeur.

Références :	Type de milieu :	Emballage :
1232PD90	Boîte de gélose précoulée	1 x10 Boîtes (90 mm)
1232PD60	Boîte de gélose précoulée	1 x10 Boîtes (60 mm)

2. Principe de la procédure

La digestion enzymatique de la caséine et la digestion enzymatique des tissus animaux fournissent les nutriments nécessaires. Le glucose hautement concentré est une source de carbone et d'énergie qui favorise la croissance des champignons et inhibe la plupart des bactéries. Le faible pH (5,6) du milieu favorise également la croissance des champignons tout en inhibant les bactéries contaminantes présentes dans les échantillons testés. Le chloramphénicol est un agent sélectif qui inhibe de manière significative une large gamme de bactéries gram-négatives et gram-positives.

3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée :	Suppléments/litre de solution nutritive :
Hydrolysate de caséine	5,0 g
Hydrolysate de tissu animal	5,0 g
Glucose	40,0 g
Chloramphénicol	0,05 g
Agar	15,0 g
	Gentamycine
	0,05 g

pH 5,6 ± 0,2 à 25°C.

Aspect du milieu : Clair, paille

4. Préparation du milieu

Le milieu est prêt à l'emploi. Amener le milieu à température ambiante immédiatement avant de l'utiliser.

5. Matériel nécessaire, non fourni

Matériel de laboratoire standard nécessaire à la réalisation de tests microbiologiques, y compris un incubateur

6. Précautions

- Le produit est destiné à un usage professionnel uniquement.
- Produit non automatisé.
- Le milieu contient des composants d'origine animale, qui peuvent être associés à la présence d'agents pathogènes biologiques, et doit donc être manipulé conformément aux principes de manipulation des matières biologiques potentiellement infectieuses.
- Ne pas utiliser le milieu si celui-ci présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser les boîtes endommagées.
- Ne pas utiliser les boîtes après la date d'expiration.
- La ré incubation de boîte préalablement inoculée n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats de test corrects, suivre ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans le présent manuel, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

7. Stockage

Conserver les boîtes entre 2 et 12 °C jusqu'à la date de péremption. Conserver les boîtes dans leur emballage d'origine, en position inversée (côté gélose vers le haut), à l'abri des sources de lumière directe. Pour éviter la congélation de la gélose, ne pas conserver les boîtes près des parois du réfrigérateur. Pour éviter l'apparition de condensation d'eau sur le couvercle de la boîte, ne pas ouvrir le réfrigérateur plus souvent que nécessaire et ne pas stocker les boîtes dans un réfrigérateur trop rempli.

8. Péremption

Le milieu conservé à une température comprise entre 2 et 12°C conserve ses propriétés jusqu'à 3 mois à compter de la date de production.

9. Types d'échantillons

Échantillons cliniques humains et autres échantillons.

Les échantillons testés pour la présence de dermatophytes sont des cheveux humains, des ongles et des fragments de peau qui doivent être collectés dans des plaques de Pétri stériles. Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante pendant 72 heures maximum.

Les autres types d'échantillons cliniques destinés à la recherche d'autres champignons pathogènes doivent être collectés dans des récipients stériles hermétiquement fermés, conformément aux lignes directrices relatives à la manipulation des échantillons. Les échantillons collectés doivent être livrés au laboratoire dès que possible, de préférence dans les deux heures suivant la collecte. Si ce n'est pas possible, conserver les échantillons à 4°C pendant 24 heures ou jusqu'à ce qu'ils soient livrés au laboratoire.

10. Procédure du test

1. Laisser le milieu revenir à température ambiante avant l'inoculation.
2. Inoculer l'échantillon en l'étalant directement sur la surface de la gélose.
3. Si l'échantillon est recueilli sur un écouvillon, faire tourner doucement l'extrémité de l'écouvillon sur une petite surface de gélose juste sur les bords de la boîte, puis prélever l'échantillon par la méthode des stries à l'aide d'une anse stérile.
4. Incuber les boîtes inocuées à 25-30°C.
5. Examiner les résultats de la croissance après 18 à 168 heures d'incubation.
6. Pour les cultures de dermatophytes, prolonger l'incubation jusqu'à 20 jours et vérifier la croissance tous les 4 à 6 jours.

11. Lecture et interprétation

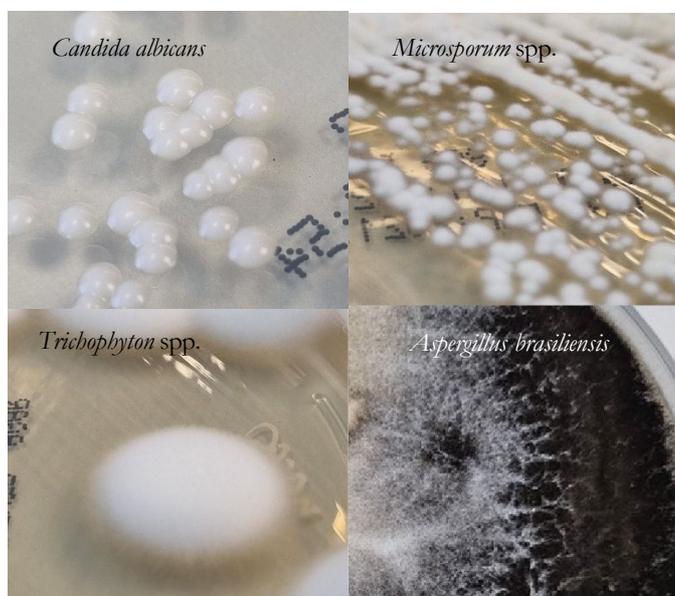
Après incubation, observer :

- la présence de colonies bactériennes,
- la morphologie des colonies,

Morphologie typique des colonies cultivées sur Sabouraud Dextrose Agar + Chloramphénicol + Gentamycine :

Micro-organisme	Morphologie typique des colonies
<i>Candida</i>	Forme régulière, large, convexe, lisse, circulaire, couleur crème
<i>Sacharomyces</i>	Forme régulière, large, convexe, lisse, circulaire, couleur crème
<i>Trichophyton</i>	Couleur blanche à crème
<i>Microsporium</i>	Surface supérieure plate, de couleur blanche à crème, floue, et surface inférieure de couleur blanche à brune
<i>Aspergillus</i>	Mycélium blanc avec spores noires

Pour l'identification définitive des micro-organismes en culture, des tests supplémentaires et/ou des tests d'identification doivent être effectués à l'aide d'autres méthodes utilisées en laboratoire.



Morphologie des colonies et schéma de croissance sur Sabouraud Dextrose Agar + Chloramphénicol + Gentamycine.

12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles du milieu doivent être vérifiées à l'aide de souches de référence donnant les réactions positives et négatives attendues. Le test doit être effectué en utilisant des cultures propres et fraîches de souches de référence donnant les réactions souhaitées. Utiliser les souches de référence suivantes pour effectuer le contrôle de la qualité du milieu :

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie de la colonie :
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Bonne croissance	De couleur crème, circulaire, lisse, à bords pleins, convexe
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Pas de croissance	–

D'autres souches de référence peuvent être utilisées conformément aux procédures et instructions de contrôle de la qualité du laboratoire. Les procédures de contrôle de la qualité doivent répondre aux exigences des réglementations et des lignes directrices/recommandations applicables.

13. Limites de la méthode

- En raison de la variabilité des besoins en nutriments, certaines souches peuvent mal se développer ou pas du tout sur le milieu Sabouraud Dextrose + Chloramphénicol + Gentamicine.
- Le milieu permet une bonne croissance fongique mais peut ne pas être suffisant pour induire des spores.

- Le chloramphénicol, lorsqu'il est utilisé pour inhiber la croissance bactérienne, peut avoir un effet inhibiteur sur certains champignons pathogènes, par exemple les champignons opportunistes qui causent la dermatophytose mais qui sont sensibles au chloramphénicol.
- Les antibiotiques présents dans le milieu inhibent également la croissance des bactéries filamenteuses du genre *Nocardia* et *Actinomyces*.
- Le milieu permet une bonne croissance fongique mais peut ne pas être suffisant pour induire des spores.
- Les échantillons à analyser doivent être prélevés avant le début de l'antibiothérapie.
- Ne pas utiliser le milieu pour cultiver des échantillons de sang.

14. Caractéristiques de la méthode

La gélose Sabouraud Dextrose (SDA) a été mise au point pour la culture et la détection des dermatophytes. Les facteurs qui favorisent la croissance fongique sont un pH faible et une concentration élevée de glucose (dextrose). Afin d'accroître la sélectivité, la composition du milieu SDA est modifiée par l'ajout de divers antimicrobiens, tels que le chloramphénicol, un antibiotique à large spectre qui inhibe la croissance des bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Le chloramphénicol à 35°C peut également inhiber la croissance de champignons tels que *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, qui ne seront pas inhibés lorsqu'ils sont cultivés à 25-30°C. Le chloramphénicol peut également être un facteur d'inhibition pour certaines autres espèces de champignons pathogènes.

La gentamicine augmente en outre la sélectivité du milieu SDA en inhibant la croissance des bactéries aérobies, principalement des bacilles à Gram négatif présents dans l'échantillon testé.

15. Élimination des matériaux usagés

Les matières usagées et non utilisées doivent être éliminées conformément à la réglementation en vigueur sur les déchets médicaux et aux procédures de laboratoire pour l'élimination des matières infectieuses et potentiellement infectieuses.

16. Déclaration des événements indésirables

Conformément à la réglementation en vigueur, les événements et incidents indésirables qui peuvent être directement liés au milieu décrit doivent être notifiés au fabricant et aux autorités compétentes.

17. Références

1. Haley, L.D., J. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech 11, Practical methods for culture and identification in the clinical microbiology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Kane, J., and R.C. Summerbell. 1999. Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton, and agents of superficial mycoses, . 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.
3. Lorian, V. (ed.). 1996. Antibiotics in laboratory medicine, 4th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
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. 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. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey and Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
9. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 5th ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.
10. Isenberg, H.D. (ed.). 2004. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1, 2 and 3, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. red A.Przondo-Mordarska Procedury diagnostyki mikrobiologicznej w wybranych zakażeniach układowych, Continuo, Warszawa 2004
12. Z.Adamski, H. Batura-Gabryel , Mikrobiologia lekarska, UM w Poznaniu, Poznań 2007
13. P.Krzyściak, M.Skóra, A.B. Macura ,Atlas grzybów chorobotwórczych człowieka, MedPharma, Wrocław 2011
14. MacFaddin J.F, Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, Williams&Wilkins, Baltimore/London, 1985Baltimore/London, 1985

Historique des modifications apportées au document

Date du changement	Section	Description du changement
09/02/2023	Document complet	Adaptation aux exigences du règlement (UE) 2017/746

NOTE

L'historique des révisions du document n'inclut pas les changements éditoriaux.

SYMBOLE	NOM DU SYMBOLE	DESCRIPTION	REF.
	Fabricant	Indique le fabricant de l'instrument médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date après laquelle l'instrument médical ne doit plus être utilisé.	5.1.3
	N° de catalogue	Indique le numéro de catalogue du fabricant afin que le dispositif médical puisse être utilisé.	5.1.6
	Lot	Indique le code de lot du fabricant afin que le lot ou le lot puisse être identifié.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un instrument médical destiné à être utilisé comme instrument médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un instrument médical destiné à un usage unique.	5.4.2
	Contient suffisamment de tests <n>	Indique le nombre total de tests pouvant être effectués avec l'instrument médical.	5.5.5
	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle l'instrument médical ne doit plus être utilisé	5.1.4
	Limite de température	Indique que les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure.	5.3.7
	Symbole de sécurité (Respect des exigences de l'UE)	Le marquage CE sur un produit est une déclaration du fabricant attestant que le produit est conforme aux exigences essentielles des réglementations pertinentes de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement.	Nd.
	Consulter le mode d'emploi ou consultez le mode d'emploi électronique	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter le mode d'emploi.	5.4.3
	Stériliser à l'aide de techniques de traitement aseptique	Indique un instrument médical qui a été fabriqué à l'aide de techniques aseptiques acceptées.	5.2.2
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter le mode d'emploi	Indique qu'un instrument médical qui ne devrait pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur devrait consulter le mode d'emploi pour obtenir des renseignements sur la dépendance.	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un instrument médical qui contient des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale	5.4.8




Gras Zenon Sobiecki
Cercle 4A; 8300 Starogard Gdanski
www.grasobiotech.pl

Département de production
Forêt 1, Owidz
83-211 Jablowo

