

GÉLOSE SABOURAUD DEXTROSE + CHLORAMPHÉNICOL/CHAMPIGNONS

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

Chat. Non:	Type moyen :	Emballage:
2017PD90	Boîte de gélose précoulée bi-compartmentée	2 x 20 pièces (90 mm)

1. Utilisation prévue

Détection et isolement d'espèces fongiques pathogènes dans des échantillons cliniques humains et d'autres échantillons.

La gélose Sabouraud Dextrose + Chloramphenicol/Champignon est un milieu sélectif conçu pour la détection qualitative et l'isolement des champignons pathogènes.

Le milieu est recommandé pour la culture d'échantillons contenant une flore bactérienne riche, tels que les expectorations et les prélèvements cutanés.

La fonction de la gélose Sabouraud Dextrose + Chloramphénicol/ Champignon est d'aider au diagnostic des patients présentant des symptômes indiquant une infection fongique potentielle.

Les champignons sont classés parmi les agents pathogènes opportunistes. Au cours des dernières décennies, on a observé une augmentation significative de l'incidence des infections fongiques invasives. Cette augmentation s'accompagne d'une morbidité, d'une mortalité excessives et est directement liée à une population croissante de patients à risque, tels que les patients subissant des transfusions sanguines, des transplantations, des interventions chirurgicales majeures, les patients atteints du SIDA, les patients atteints d'un cancer, les patients soumis à des thérapies immunosuppressives et une large population de patients gériatriques et de nouveau-nés prématurés. Parmi les champignons pathogènes pour l'homme, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus* sont le plus souvent isolés dans les infections invasives. En outre, de nombreuses espèces de champignons sont responsables de mycoses de la peau et de ses produits, ainsi que de mycoses des muqueuses du tractus gastro-intestinal ou de l'appareil reproducteur.

Compte tenu des circonstances variables des patients à risque et de la diversité des champignons pathogènes, les mycoses opportunistes posent d'importants défis diagnostiques et thérapeutiques.

2. Principe de procédure

Gélose Sabouraud Dextrose + Chloramphénicol

L'hydrolysate de caséine et du tissu animal fournit les nutriments nécessaires à la croissance. Le dextrose à des concentrations élevées est une source de carbone et d'énergie et a un effet positif sur la croissance des champignons. Des niveaux élevés de glucose inhibent la croissance de la plupart des bactéries. Le faible pH de 5,6 du milieu favorise la croissance fongique, tout en inhibant la croissance des bactéries présentes dans l'échantillon testé.

Le chloramphénicol est un agent sélectif qui réduit considérablement la croissance de la plupart des bactéries à Gram positif et à Gram négatif présentes dans l'échantillon testé.

Gélose pour la détection d'infections fongiques

L'hydrolysate de soja fournit les nutriments nécessaires à la croissance. Le dextrose est une source de carbone et d'énergie. Le chloramphénicol, en tant qu'antibiotique à large spectre, inhibe la croissance de nombreuses bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Le cycloheximide est utilisé dans les milieux pour l'isolement de champignons pathogènes. Il inhibe la croissance de champignons non pathogènes tels que les moisissures saprophytes et les levures. Il est particulièrement utile dans l'isolement des dermatophytes. Le rouge de phénol est un indicateur de pH.

3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée:

<u>Gélose Sabouraud Dextrose + Chloramphénicol</u>		<u>Gélose pour la détection des infections fongiques</u>	
Hydrolysate de caséine	5,0 g	Hydrolysate du tourteau de soja	10,0 g
Hydrolysate de tissu animal	5,0 g	Dextrose	10,0 g
Dextrose	40,0 g	Cycloheximide	0,4 g
Chloramphénicol	0,05 g	Chloramphénicol	0,05 g
Agar	15,0 g	Agar	15,5 g
pH 5,6± 0,2 à 25°C.		Rouge de phénol	0,05 g
Aspect du milieu : Clair, paille		pH 6,9± 0,2 à 25°C.	
		Apparence du milieu : Clair, orange.	

4. Préparation du milieu

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

5. Equipement requis, non fourni

Équipement de laboratoire microbiologique standard nécessaire pour les tests, 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, doit donc être manipulé conformément aux principes de manipulation de matériel biologique potentiellement infectieux.
- Ne pas utiliser de plaques si le milieu présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser de boîtes endommagées.
- Ne pas utiliser de boîtes après la date d'expiration.
- La réincubation des boîtes préalablement inoculées n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats de test corrects, suivez 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

Conservez 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 directes. 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. Type d'échantillons

Échantillons cliniques d'origine humaine et autres échantillons.

Les échantillons à analyser pour détecter la présence de dermatophytes sont des échantillons de cheveux, d'ongles et de peau, qui doivent être recueillis dans des boîtes 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 et scellés, conformément aux directives relatives aux échantillons. Livrer les échantillons collectés au laboratoire dès que possible, de préférence dans les deux heures suivant la collecte. Si cela n'est pas possible, conserver les échantillons à 4°C pendant 24 heures au maximum jusqu'à leur livraison 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 zone de gélose juste autour des bords de la boîte, puis inoculer l'échantillon en utilisant la méthode des stries à l'aide d'une anse stérile.
4. Incuber les boîtes inoculées à 25-30°C.
5. Examiner le résultat de la croissance après 48-168 heures d'incubation.

11. Lecture et interprétation

Après incubation, observer :

- La présence de colonies fongiques,
- La morphologie des colonies.

Morphologie typique des colonies bactériennes cultivées sur gélose Sabouraud Dextrose + milieu chloramphénicol

Micro-organisme	Morphologie typique de la colonie
<i>Candida</i>	Colonies régulières, grandes, convexes, lisses, rondes, crème
<i>Saccharomyces</i>	Colonies régulières, grandes, convexes, lisses, rondes, crème
<i>Trichophyton</i>	Colonies blanches à crème
<i>Microsporium</i>	Colonies plates blanches à crème avec une surface ressemblant à une faucille, avec une surface inférieure blanche à brune
<i>Aspergillus</i>	Mycélium blanc avec spores noires



Candida albicans *Microsporium* spp.



*Trichophyton* spp.*Aspergillus brasiliensis*

Morphologie et schéma de croissance des colonies sur gélose Sabouraud Dextrose avec chloramphénicol.

Morphologie typique des colonies cultivées sur gélose Fungisel :

Micro-organisme	Morphologie typique de la colonie
<i>Candida</i>	Colonies régulières, grandes, convexes, lisses, rondes, crème à jaune clair
<i>Trichophyton</i>	Colonies blanches à crème, changement de couleur moyen de rose à rouge
<i>Aspergillus</i>	Pas de croissance
<i>Escherichia coli</i>	Pas de croissance
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pas de croissance



Morphologie des colonies et schéma de croissance de *Trichophyton* spp. sur gélose fongique

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

12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles et la sélectivité 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 pures, de 18 à 24 heures (ou

plus) de souches de référence donnant les réactions souhaitées. Utiliser les souches de référence suivantes pour effectuer le contrôle de qualité du milieu :

Gélose Sabouraud Dextrose + Chloramphénicol

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie des colonies :
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Bonne croissance	Crémeux, circulaire, lisse, convexe
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Pas de croissance	—

Gélose fongigène

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie des colonies :
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Bonne croissance	régulier, grand, convexe, lisse, circulaire, crémeux à jaune clair
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533	Bonne croissance	Mycélium blanc, changement de couleur moyen du rose au rouge
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Pas de croissance	-

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

13. Limites de la méthode

- En raison de la variabilité des besoins nutritionnels, certaines souches peuvent mal se développer ou pas du tout sur la gélose Sabouraud Dextrose + gélose chloramphénicol / champignons.
- La gélose Sabouraud Dextrose + Chloramphénicol fournit une bonne croissance fongique, mais peut ne pas donner des résultats suffisants dans le développement des champignons.
- Le chloramphénicol, lorsqu'il est utilisé pour inhiber la croissance bactérienne, peut avoir un effet inhibiteur contre certains champignons pathogènes, tels que les champignons opportunistes qui causent des infections de type dermatophytose mais sont sensibles au chloramphénicol.
- Les échantillons à tester doivent être prélevés avant de commencer l'antibiothérapie.
- Ne pas utiliser le milieu pour les échantillons de sang.

14. Caractéristiques de la méthode

Le diagnostic des infections fongiques est extrêmement difficile en raison des méthodes d'identification limitées, qui reposent principalement sur l'évaluation macroscopique et microscopique des cellules fongiques. Les dermatophytes sont particulièrement difficiles à isoler et à identifier. La spectrométrie de masse est une méthode de détection efficace, de plus en plus utilisée ces dernières années. Toutefois, cette technique n'est pas encore disponible dans de nombreux laboratoires et sa mise en œuvre présente certaines difficultés. Il est donc recommandé d'utiliser des variantes du milieu Sabouraud pour cultiver et isoler les cellules fongiques. L'une de ces variantes est la gélose Fungisel additionnée de cycloheximide et de chloramphénicol, qui inhibent tous deux la croissance des bactéries et des champignons non pathogènes. En 2018, Rahman et al. ont publié dans *Mymensingh Med. J.* les résultats d'une analyse comparative de trois milieux - Sabouraud Agar, Dermatophytes Test Medium et Sabouraud Agar additionné de cycloheximide et de chloramphénicol. L'étude a consisté à cultiver des cellules fongiques sur des milieux solides et à les examiner au microscope. 84 échantillons prélevés sur des patients suspectés de dermatophytose ont été examinés. La méthode d'évaluation microscopique a donné 37,5 % de résultats positifs, tandis que la méthode de culture a donné 47,6 % de résultats positifs, ce qui indique la plus grande sensibilité de la méthode de culture. Aucune différence statistiquement significative n'a été détectée entre les milieux testés.

La gélose Sabouraud Dextrose (SDA) a été développée 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.

La présence de chloramphénicol dans le milieu augmente l'efficacité de la croissance fongique dans les échantillons contenant une flore bactérienne mixte. 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.

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

Selon la réglementation en vigueur, les événements indésirables et les incidents pouvant être directement liés au substrat décrit doivent être signalés au fabricant et aux autorités compétentes.















17. Références

1. Sabouraud, R. 1892 Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralite des trichophytons de l'homme. Ann. Dermatol. Syphil. 3:1061-1087.
2. 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..
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. Kane, J., and R.C.. Summerbell. 1999. Trichophyton, Microsporium, 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..
5. Lorian, V. (ed.). 1996. antibiotics in laboratory medicine, 4th 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. Tenover (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 and Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
12. 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.
13. 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.
14. ed A.Przondo-Mordarska Procedures of microbiological diagnostics in selected systemic infections, Continuo, Warsaw 200
15. Z.Adamski, H. Batura-Gabryel , Medical mycology, UM in Poznań, Poznań 2007
16. P.Krzyściak, M.Skóra, A.B. Macura, Atlas grzybów chorobotwórczych człowieka, MedPharma, Wrocław 2011
17. MacFaddin J.F, Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacterias, Williams&Wilkins, Baltimore/London, 1985

Historique des modifications apportées aux documents

Date du changement	Section	Description du changement
13/04/2023	Document entier	Adaptation aux exigences du règlement UE 2017/746

NOTE**L'historique des révisions du document n'inclut pas les modifications rédactionnelles.**

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

GRASO[®]

Gras Zenon Sobiecki
Cercle 4A; 830 Starogard Gdanski
www.grasobiotech.pl

Département de production
Forêt 1, Owidz
83-211 Jabłowo

