

GÉLOSE SABOURAUD DEXTROSE + CHLORAMPHÉNICOL + ACTIDIONE

NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRÉPARÉS EN TUBE ET FLACON

1. Utilisation

Sabouraud Dextrose + Chloramphénicol + Actidione est un milieu sélectif utilisé pour la détection qualitative et l'isolement des dermatophytes et autres moisissures, à l'exception des moisissures saprophytes et des levures, dans les échantillons cliniques humains et autres.

Le milieu est recommandé pour la culture d'échantillons contenant de grandes quantités de bactéries et de moisissures saprophytes, et en particulier pour la détection des dermatophytes.

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

Les champignons font partie des agents pathogènes opportunistes. Au cours des dernières décennies, l'incidence des infections fongiques invasives a augmenté de manière significative. Cette augmentation des infections s'accompagne d'une morbidité et d'une mortalité excessives et est directement liée à l'augmentation de la population de patients susceptibles de développer des infections fongiques graves. Les groupes à risque comprennent les patients qui subissent des transfusions sanguines, des transplantations, des interventions chirurgicales majeures, les patients atteints du SIDA, du cancer ou de thérapies immunosuppressives, ainsi qu'une large population de personnes âgées et de nouveau-nés prématurés.

Parmi les champignons pathogènes pour l'homme, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus* sont le plus souvent isolés lors d'infections invasives. En outre, de nombreuses espèces fongiques sont responsables de mycoses de la peau et de ses produits, ainsi que des muqueuses du tractus gastro-intestinal ou de l'appareil reproducteur.

Compte tenu de la complexité des patients exposés au risque d'infection et de la diversité de nombreux champignons pathogènes, les mycoses opportunistes posent d'importants défis diagnostiques et thérapeutiques.

Référence :	Type de milieu :	Emballage :
6304BT7 6304BT7S (P)	Milieu solide en tube, prêt à l'emploi	1 x 50 pièces (7 mL) 1 x 50 pièces (7 mL)
3040BT100 3040BT200 3040BT250(P) 3020BT500	Milieu solide en flacon	100 mL 200 mL 250 mL 500 mL

2. Principe

L'hydrolysate enzymatique de caséine et de tissus animaux fournissent les nutriments nécessaires à la croissance. Le glucose en concentration élevée constitue une source de carbone et d'énergie favorisant la croissance des moisissures. Des concentrations élevées de glucose ont un effet inhibiteur sur la croissance de la plupart des bactéries. Un faible pH de 5,6 du milieu favorise la croissance fongique, tout en inhibant la croissance des bactéries présentes dans les échantillons analysés.

Le chloramphénicol est un agent sélectif qui réduit considérablement la croissance de la plupart des bactéries Gram-positives et Gram-négatives présentes dans l'échantillon à analyser. La présence d'actidione (cycloheximide) inhibe la croissance des moisissures saprophytes et de certaines levures présentes dans l'échantillon à analyser.

3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée :	Suppléments/litre de milieu
Hydrolysate enzymatique de caséine 5,0 g	Actidione (cycloheximide) 0,5 g
Hydrolysate enzymatique de tissus animaux 5,0 g	
Glucose 40,0 g	
Chloramphénicol 0,05 g	
Agar 15,0 g	

pH 5,6 ± 0,2 à 25° C.

Aspect du milieu - Clair, de couleur paille

4. Préparation du milieu

Le milieu contenu dans les tubes est prêt à l'emploi. Laisser le milieu revenir à la température ambiante juste avant l'utilisation

Dissoudre le milieu dans des flacons au bain-marie à 80°C ou au micro-ondes.

Dissolution de la gélose au micro-ondes *

1. Desserrer le bouchon du flacon avant de le placer dans un four à micro-ondes.
2. Placez le flacon de gélose au centre du four à micro-ondes.
3. Chauffer la gélose par intervalles d'une minute à faible puissance jusqu'à dissolution complète.
4. Pendant les pauses, agiter doucement le contenu du flacon pour que la gélose se liquéfie uniformément.
5. Avant de retirer le flacon, mettre des gants de protection, retirer délicatement le flacon chaud et le laisser refroidir à 45°C -50 °C avant de le transvaser.
6. Après refroidissement à 45°C - 50 °C, sous une hotte à flux laminaires ou dans des conditions aseptiques, verser le milieu dans des boîtes de gélose ou dans des tubes à essai en formant un biseau. Le volume de milieu versé dépend des besoins de diagnostic.

* Le laboratoire *doit valider le processus, en fixant des conditions individuelles de temps de dissolution et de température.*

Dissolution de la gélose au bain-marie

1. Desserrer le bouchon du flacon avant de le placer au bain-marie.
2. La température de l'eau ne doit pas dépasser 80°C.
3. Laissez reposer au bain-marie jusqu'à dissolution complète.
4. Remuer doucement le contenu du flacon pour que la gélose se liquéfie uniformément.
5. Avant d'enlever le flacon, mettre des gants de protection, retirer soigneusement le flacon chauffé et le laisser refroidir à une température de 45°C - 50 °C avant de le transvaser.
6. Après refroidissement à 45°C -50 °C, sous une hotte à flux laminaires ou dans des conditions aseptiques verser le milieu dans des boîtes de gélose ou dans des tubes à essai en formant un biseau. Le volume de milieu versé dépend des besoins de diagnostic.

5. Matériel nécessaire, non fourni

Matériel de laboratoire standard nécessaire pour tester et verser le milieu après liquéfaction, y compris un thermomètre de laboratoire, un bain-marie ou un four à micro-ondes, des boîtes de Pétri stériles et des tubes stériles avec bouchons.

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 biologiques pathogènes. Il doit donc être manipulé conformément aux principes de manipulation du matériel biologique potentiellement infectieux.
- Ne pas utiliser si milieu présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser de tubes à essai, de flacons endommagés.
- Ne pas utiliser de tubes, de flacons ayant dépassés la date de péremption.
- Liquéfier le milieu et le verser dans des boîtes/tubes selon les instructions suivantes
- Ne pas laisser le milieu surchauffer pendant la liquéfaction.
- Utiliser un tube de milieu de culture par souche
- Suivre ces instructions pour garantir des résultats corrects
- Si la manipulation du milieu pendant l'exécution diffère de celle décrite dans la présente notice, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

7 Stockage

Conserver les tubes et les flacons de milieu entre 6°C et 25 °C jusqu'à la date de péremption, dans leur emballage d'origine, en position verticale, à l'abri de la lumière directe.

8. Péremption

Le milieu stocké à une température comprise entre 6 °C et 25°C conserve ses propriétés 12 mois après la date de production.

9. Type d'échantillon

Échantillons clinique d'origine humaine et autres échantillons.

Les tests de détection des dermatophytes sont effectués sur des cheveux, des ongles et des fragments de peau prélevés sur des êtres humains, qui doivent être placés dans des boîtes de de gélose stériles. Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante pendant 72 heures.

Les autres types d'échantillons cliniques destinés à être analysés pour détecter la présence d'autres champignons pathogènes doivent être collectés dans des récipients stériles scellés, conformément aux directives relatives à l'échantillon en question. Les échantillons collectés doivent être livrés 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

Milieu de culture sur une boîte

1. Amener le milieu à température ambiante avant utilisation.
2. Ensemencer l'échantillon en l'étalant sur la surface de la gélose.
3. Si l'échantillon a été prélevé sur un écouvillon, faire tourner doucement l'extrémité de l'écouvillon sur une petite surface de gélose juste autour des bords de la boîte, puis inoculer l'échantillon à l'aide d'une anse stérile.
4. Incuber les boîtes ensemencées entre 25 °C et 30°C, dans un environnement avec une humidité accrue.
5. Lire le résultat de la croissance après 48 à 168 heures d'incubation.

Milieu de culture en tube

1. Amener le milieu à température ambiante avant utilisation.
2. Ensemencer l'échantillon à l'aide d'une anse stérile en l'étalant sur la surface de la gélose.
3. Incuber les tubes ensemencés entre 25 °C et 30°C, dans un environnement avec une humidité accrue.
3. Lire le résultat de la croissance après 48 à 168 heures d'incubation.

11. lecture et interprétation

Après incubation, observer :

- La présence des colonies fongiques
- La morphologie des colonies

Les morphologie typiques des colonies cultivées sur gélose Sabouraud Dextrose + Chloramphénicol + Actidione :

Micro-organisme	Morphologie typique d'une colonie
<i>Candida</i>	Colonies régulières, grandes, convexes, lisses, rondes, de couleur crème
<i>Trichophyton</i>	Colonies de couleur blanche à crème
<i>Aspergillus</i>	Pas de croissance
<i>Escherichia coli</i>	Pas de croissance
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pas de croissance

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



Candida albicans



Trichophyton spp.

Morphologie des colonies et schéma de croissance de différentes espèces fongiques sur le milieu Sabouraud Dextrose Agar + Chloramphénicol + Actidione

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 propres et fraîches de souches de référence donnant les réactions souhaitées. Pour effectuer le contrôle qualité du milieu, il convient d'utiliser les souches de référence suivantes :

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie de la colonie :
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Bonne croissance	Régulière, grande, convexe, lisse, ronde, crémeuse
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Absence de croissance	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Absence de croissance	-

D'autres souches de référence peuvent être utilisées pour assurer la fiabilité des mesures, conformément aux procédures et aux instructions de contrôle qualité du laboratoire. Les procédures de contrôle qualité doivent répondre aux exigences des réglementations et des lignes directrices/recommandations en vigueur.

13. Limites de la méthode

- En raison de la variabilité des besoins nutritionnels, certaines souches fongiques peuvent se développer faiblement ou pas du tout sur le milieu Sabouraud Dextrose Agar + Chloramphénicol + Actidione.
- Les antibiotiques présents dans le milieu qui inhibent la croissance bactérienne peuvent également inhiber la croissance de certains champignons.
- Le chloramphénicol, lorsqu'il est utilisé pour inhiber la croissance bactérienne, peut avoir un effet inhibiteur sur certains champignons pathogènes, tels que les champignons opportunistes qui provoquent des infections de type dermatophytose, mais qui sont sensibles au chloramphénicol.
- Les tests doivent être effectués avant le début de l'antibiothérapie.

14. Caractéristiques de la méthode

La gélose Sabouraud Dextrose (SDA) a été mise au point pour la détection et la culture des dermatophytes. Les facteurs qui favorisent la croissance fongique sont un pH faible et une concentration élevée en glucose (dextrose). La gélose Sabouraud sans ajout d'antibiotique a été le premier milieu utilisé comme milieu standard pour la culture fongique et est encore largement utilisée dans les tests de diagnostic in vitro. Toutefois, afin d'accroître la sélectivité, la composition du milieu SDA est modifiée par l'ajout de divers antibiotiques tels que le chloramphénicol, un antibiotique à large spectre qui inhibe la croissance des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. La présence de chloramphénicol dans le milieu augmente l'efficacité de la culture fongique dans les échantillons à forte teneur en autres micro-organismes. Le chloramphénicol à 35°C peut également inhiber la croissance de champignons tels que *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, par exemple, qui ne seront toutefois pas inhibés lorsqu'ils sont cultivés entre 25°C et 30°C. Le chloramphénicol peut inhiber la croissance de certains autres moisissures pathogènes. La présence d'actidion (cycloheximide) dans le milieu inhibe la croissance des moisissures saprophytes et de certaines levures présentes dans l'échantillon testé, ce qui favorise une bonne croissance des autres moisissures dans le milieu, principalement des dermatophytes. Pour la détection des moisissures et/ou des levures, l'utilisation du milieu SDA sans inhibiteurs est recommandé.

15. Elimination des Matériaux usagés

Les milieux utilisés et non utilisés doivent être éliminés conformément aux réglementations en vigueur en matière de traitement des déchets médicaux et aux procédures de laboratoire relatives à 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. 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. 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.
4. 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.
5. Summerbell, R.C.. 2003. Trichophyton, Microsporium, 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, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. PA-254417.04 - 4 -.
6. Larone, D.H. 2002 Medically important fungi: a guide to identification. 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C..
7. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
8. Fromtling, 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, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. ed A.Przondo-Mordarska, Microbiological diagnostic procedures in selected systemic infections, Continuo, Warsaw 2004
10. z. Adamski, H. Batura-Gabryel, Microbiology of medicine, UM in Poznań, Poznań 2007
11. p. Krzyściak, M.Skóra, A.B. Macura, Atlas grzybów chorobotwórczych człowieka, MedPharma, Wroclaw 2011
12. Guidelines for the diagnosis, prevention and control of dermatophytoses in man and animals, WHO, Geneva 1986.





Historique des modifications apportées au document

Date du changement	Section	Description du changement
30/03/2022	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 du dispositif médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date à laquelle le dispositif médical a été fabriqué.	5.1.3
	Numéro 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 de permettre l'identification du lot.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un dispositif médical destiné à être utilisé comme dispositif médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un dispositif médical destiné à un usage unique.	5.4.2
	Suffisantes pour <n> tests	Indique le nombre total de tests qui peuvent être effectués avec le dispositif médical.	5.5.5

	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle le dispositif médical ne doit pas être utilisé	5.1.4
	Limite de température	Les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure.	5.3.7
	Symbole de sécurité (Conformité avec les exigences de l'UE)	Le marquage CE apposé sur un produit est une déclaration du fabricant selon laquelle le produit est conforme aux exigences essentielles de la réglementation de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement.	nd.
	Consultez la notice d'utilisation	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter la notice d'utilisation	5.4.3
	Stérilisé à l'aide de techniques de traitement aseptiques	Indique un dispositif médical qui a été fabriqué en utilisant des techniques aseptiques reconnues.	5.2.2
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter la notice d'utilisation	Indique qu'un dispositif médical ne doit pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur doit consulter la notice d'utilisation pour obtenir des informations sur la dépendance	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un dispositif médical contenant des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale.	5.4.8



Graso Zenon Sobiecki
Krağ 4A; 83-200 Starogard Gdański
www.grasobiotech.pl

Oddział produkcyjny
Leśna 1, Owidz
83-211 Jabłowo

