

# GELOSE DE SABOURAUD DEXTROSE (SDA)

## DENOMBREMENT DES LEVURES ET MOISSURES

### 1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de Sabouraud Dextrose (SDA) est un milieu classique permettant la culture, le dénombrement et l'identification des levures et des moisissures pour le contrôle de stérilité des produits pharmaceutiques et cosmétiques. Elle permet aussi la recherche spécifique de *Candida albicans* dans les produits pharmaceutiques.

La formule-type répond à la composition définie dans les normes NF EN ISO 18416, NF EN ISO 16212, NF EN ISO 11930 et dans la Pharmacopée européenne.

### 2 HISTORIQUE

Le milieu a été recommandé par Sabouraud pour la culture des champignons pathogènes associés aux infections cutanées.

### 3 PRINCIPES

La gélose de Sabouraud Dextrose est un milieu peptoné et glucosé permettant la croissance des levures et des moisissures.

Le pH acide permet d'inhiber la majorité de la flore annexe.

### 4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Dextrose (\*) ..... 40,0 g
- Digestat pancréatique de tissus animaux ..... 5,0 g
- Digestat pancréatique de caséine ..... 5,0 g
- Agar agar bactériologique ..... 15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 5,6 ± 0,2.

(\*) : Le milieu déshydraté contient 36,4 g de dextrose anhydre, ce qui correspond à 40,0 g de dextrose monohydraté.

### 5 PREPARATION

#### Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 61,4 g de milieu déshydraté (BK025) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution :**  
61,4 g/L

✓ **Stérilisation :**  
15 min à 121 °C

#### Utilisation du milieu prêt-à-liquéfier:

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance) ou bien le milieu prêt-à-liquéfier (BM053), pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliquéfaction totale.
- Refroidir à 44-47 °C et utiliser selon l'application.

**Note :**

Pour certaines applications, le milieu peut être additionné de gentamicine (BS009) ou de chloramphénicol (BS021). Se reporter aux fiches techniques des suppléments concernés.

## 6 MODE D'EMPLOI

---

### Dénombrement des levures et moisissures dans les produits non stériles, selon la pharmacopée

#### En surface

- Utiliser les boîtes prêt-à-l'emploi (BM173) ou couler le milieu maintenu à 44-47°C en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Ensemencer 0,1 mL de l'inoculum à la surface des boîtes à l'aide d'un étaleur stérile ; ou déposer la membrane à la surface de la gélose, après filtration d'un produit cosmétique à contrôler.
- Incuber à 20-25 °C pendant 5 à 7 jours.

✓ **Ensemencement :**  
En surface, profondeur ou filtration

✓ **Incubation :**  
5 à 7 jours à 20-25 °C

#### En profondeur

- Ensemencer 1 mL du produit et de ses dilutions dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 15 mL de milieu préalablement maintenu à 44-47 °C, par boîte.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber à 20-25 °C pendant 5 à 7 jours.

### Détection de *Candida albicans* dans les produits non stériles, selon la pharmacopée

- Ensemencer 10 mL de l'échantillon dans 100 mL de bouillon Sabouraud Dextrose.
- Incuber à 30-35 °C pendant 3 à 5 jours
- Repiquer sur la gélose préparée ou prête-à-l'emploi et incuber 24 à 48 h à 30-35 °C.

✓ **Ensemencement :**  
Isolement

✓ **Incubation :**  
24 à 48 h à 30-35 °C

### Culture des souches de référence (NF EN ISO 16212, NF EN ISO 11930, NF EN ISO 18416)

- Ensemencer en surface la souche de référence (*Candida albicans* ATCC 10231 par exemple) et incuber 18-24 h à 30-35 °C.

### Cosmétiques, démonstration de l'efficacité du neutralisant (NF EN ISO 11930)

- Transférer 1 mL de chaque essai (essai, témoin et témoin inoculum) dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 15 mL de milieu préalablement maintenu à 44-47 °C, par boîte.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber à 30-35 °C pendant 2 à 3 jours pour le dénombrement de *Candida albicans*.

✓ **Ensemencement :**  
En profondeur, 1 mL

✓ **Incubation :**  
2 à 3 jours à 30-35 °C

**Note :**

Le milieu peut être utilisé pour le dénombrement des levures et moisissures dans des produits cosmétiques connus comme non contaminés par des bactéries, selon la norme NF EN ISO 16212. Dans ce cas, ensemencer en profondeur, en surface ou par filtration et incuber 5 à 7 jours à 20-25 °C

## 7 LECTURE

---

Après incubation, observer la croissance des levures et des moisissures. Dénombrer les boîtes contenant un nombre de colonies ou de thalles inférieur à 100.

## 8 CONTROLE QUALITE

---

**Milieu déshydraté :** poudre blanc-crème, fluide et homogène.

**Milieu pré-coulé ou prêt-à-liquéfier :** gélose ambrée claire.

Réponse culturelle après 48-72 heures d'incubation à 20-25 °C (NF EN ISO 11133)

Microorganismes		Croissance
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	WDCM 00058	Positive
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	WDCM 00053	Positive

Réponse culturelle après 24 heures d'incubation en surface à 30-35 °C

Microorganismes		Croissance
<i>Candida albicans</i>	WDCM 00054	$P_R \geq 70 \%$

## 9 CONSERVATION

---

**Milieu déshydraté :** 2-30 °C.

**Milieu prêt-à-liquéfier en flacons :** 2-25 °C.

**Milieu pré-coulé en boîtes de Petri :** 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

**Milieu préparé en flacons ou en tubes (\*) :** 180 jours à 2-25 °C.

**Milieu préparé en boîtes (\*) :** 30 jours à 2-8 °C.

(\*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

## 10 PRESENTATION

---

**Milieu déshydraté :**

Flacon de 500 g ..... BK025HA

**Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) :**

Coffret de 20 boîtes ..... BM17308

**Milieu prêt-à-liquéfier :**

Pack de 10 flacons de 200 mL ..... BM05308

## 11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Sabouraud, R.. 1900. Les teignes, Masson et Cie, Paris, 553.

Ajello, L.. 1957. Cultural methods for human pathogenic Fungi. Journal of Chronic Diseases, **5** : 545.

Pagano, J., Levin, J.D., and Trejo, W.. 1957/1958. Diagnostic medium for differentiation of species of *Candida*. Antibiotics Annual, **5** : 137-143.

NF EN ISO 18416. Septembre 2009. Cosmétiques. Microbiologie. Détection de *Candida albicans*.

NF EN ISO 16212. Aout 2011. Cosmétiques. Microbiologie. Dénombrement des levures et des moisissures.

NF EN ISO 11930. Juin 2012. Cosmétiques. Microbiologie. Evaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique.

Pharmacopée Européenne harmonisée. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiés.

## 12 AUTRES INFORMATIONS

---

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : GELOSE SABOURAUD DEXTROSE\_FR\_V3.

Date création : 03-2013

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale.