



BBL Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol



8814091 • Rév. 03 • avril 2015

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Le Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol (milieu pour épreuve dermatophyte, modifié au chloramphénicol) est un milieu sélectif et différentiel utilisé pour la détection et l'identification présomptive des dermatophytes à partir d'échantillons cliniques et vétérinaires.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Dans le cas de *E. coli* et *P. aeruginosa*, ensemencer en stries avec 1 µL (0,001 mL) à partir d'une culture de 4 – 5 h de **Trypticase Soy Broth** dilué à $10^6 - 10^7$ CFU/mL.
 - b. Dans le cas des champignons, ensemencer directement à partir d'une boîte mère en utilisant des cultures fongiques fraîches (vieilles de 1 mois au maximum).
 - c. Incuber à 25 ± 2 °C en atmosphère aérobie.
 - d. Incorporer des boîtes d'un lot précédemment testé de TSA with 5 % Sheep Blood comme contrôle pour *E. coli* et *P. aeruginosa* ; utiliser des boîtes d'un lot précédemment testé de Sabouraud Dextrose Agar comme contrôle pour les autres organismes.
2. Examiner les boîtes de temps à autre pour déceler une croissance éventuelle jusqu'à 7 jours.
3. Résultats attendus

Microorganismes	ATCC	Récupération	Coloration du milieu
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Inhibition (partielle à totale)	NA
<i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibition (partielle à totale)	NA
* <i>Microsporum audouinii</i>	9079	Croissance modérée à importante	Coloration rose à rouge
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	Inhibition (partielle à totale)	NA
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Croissance modérée à importante	Coloration rose à rouge

*Souche de microorganisme recommandée pour le contrôle de qualité par l'utilisateur.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les boîtes comme indiqué à la rubrique " Détérioration du produit ".
2. Inspecter visuellement des boîtes représentatives pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Mesurer le pH par potentiométrie à température ambiante et s'assurer qu'il est conforme à la spécification de $5,5 \pm 0,2$.
4. Noter la fermeté des lits de gélose pendant l'ensemencement.
5. Incuber des boîtes représentatives non ensemencées à $33 - 37$ °C et $20 - 25$ °C et les examiner après 72 h pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS SUR LE PRODUIT

IV APPLICATION

Le Dermatophyte Test Medium (DTM), (milieu pour épreuve dermatophyte) est un milieu sélectif et différentiel utilisé pour la détection et l'identification présomptive des dermatophytes à partir d'échantillons cliniques. En raison de la non-disponibilité de l'un des agents inhibiteurs, la chlortétracycline, le Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol (milieu pour épreuve dermatophyte, modifié au chloramphénicol) est recommandé comme substitut pour la préparation DTM d'origine.

V RESUME ET EXPLICATION

Les dermatophytes sont à l'origine des infections fongiques (mycoses) cutanées des cheveux, de la peau et des ongles, auxquelles on fait généralement référence sous le nom de teignes ou de dermatomycoses.¹⁻³ Les membres des genres *Trichophyton*, *Microsporum* et *Epidermophyton* sont les agents étiologiques les plus courants de ces infections.

Taplin et al. ont développé le DTM en tant que milieu de dépistage pour la détection et l'isolement sélectifs des dermatophytes à partir d'échantillons cliniques.⁴ Une combinaison de trois agents antimicrobiens (cycloheximide, chlortétracycline et gentamicine) ont inhibé les bactéries ainsi que les levures et moisissures saprophytes. Le manque de disponibilité de chlortétracycline fin 1992 a entraîné sa substitution par du chloramphénicol.

Les dermatophytes sont identifiés présomptivement en fonction de leur morphologie grossière et de la production de métabolites alcalins qui élèvent le pH et provoquent le virage de la couleur du milieu par l'indicateur au rouge de phénol du jaune au rose puis au rouge.²⁻⁴ Taplin et al. ont rapporté un pourcentage de précision du milieu (avec chlortétracycline) de 97 à 100 % pour l'identification de dermatophytes.⁴

VI PRINCIPES DE LA METHODE

La digestion papainique de semoule de soja apporte les acides aminés et les autres composés azotés nécessaires à la croissance fongique. Le dextrose est une source d'énergie. Le rouge de phénol, un indicateur colorimétrique, est compris pour visualiser l'élévation du pH dans le milieu.

Les agents antimicrobiens améliorent la récupération des dermatophytes en inhibant les bactéries et les champignons saprophytes. Le cycloheximide est un agent antifongique actif contre les levures et les moisissures saprophytes, mais inactif contre les dermatophytes. Le chloramphénicol est un antibiotique à spectre étendu qui inhibe un grand nombre de bactéries à Gram positif ou Gram négatif. La gentamicine est un antibiotique à base d'aminoglycosides qui inhibe les bactéries à Gram négatif et certaines bactéries à Gram positif, y compris les staphylocoques.

VII REACTIFS

Dermatophyte Test Medium, Modified with Chloramphenicol

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion papaïnique de semoule de soja.....	10,0 g	Cycloheximide.....	0,5 g
Dextrose.....	10,0 g	Gentamicine.....	0,1 g
Gélose.....	24,0 g	Chloramphénicol.....	0,1 g
Rouge de phénol.....	0,2 g		

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performance imposés.

Avertissements et précautions : Pour le diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes et les flacons étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »⁵⁻⁸ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. Stériliser à l'autoclave les boîtes préparées, les flacons, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation : Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité entre 2 et 8 °C. Eviter de congeler ou de surchauffer. Ne pas les ouvrir prématurément. Les maintenir à l'abri de la lumière. Conservés comme indiqué sur l'étiquette, les milieux en tube peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption et incubés pendant les durées d'incubation recommandées. Laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante avant de l'ensemencer.

Détérioration du produit : Ne pas utiliser le milieu s'il présente des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Se référer aux textes appropriés pour de plus amples détails sur la manipulation et le prélèvement des échantillons.^{1-3,9}

IX METHODE

Matériaux fournis : Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol (milieu pour épreuve dermatophyte, modifié au chloramphénicol)

Matériaux requis mais non fournis : Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test : Respecter les techniques d'asepsie.

Ensemencer le milieu dès que possible après réception de l'échantillon au laboratoire. Placer l'échantillon au centre de la surface de la gélose et l'enfoncer légèrement dans celle-ci afin d'assurer un contact ferme avec le milieu.

Remettre le capuchon en place sans le serrer afin de permettre à l'air de circuler et incubé entre 22 et 25 °C jusqu'à 14 jours.

Contrôle de qualité par l'utilisateur : Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA correspondantes pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

X RESULTATS

Les dermatophytes produisent une morphologie typique et un changement de couleur du milieu du rose au rouge autour de la colonie, au bout de 10 à 14 jours d'incubation. Ignorer tout changement de couleur ayant lieu après le quatorzième jour d'incubation car cela pourrait provenir de champignons contaminants.⁴

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Un milieu unique est habituellement insuffisant pour détecter l'ensemble des microorganismes d'importance clinique éventuellement présents dans un échantillon. Les agents présents dans les milieux sélectifs sont susceptibles d'inhiber la croissance de certaines souches des espèces dépistées et de favoriser la croissance d'espèces censées être inhibées, notamment lorsqu'elles sont largement représentées dans l'échantillon. Les échantillons cultivés sur des milieux sélectifs doivent, par conséquent, être également cultivés sur des milieux non sélectifs pour recueillir des informations complémentaires et faciliter la mise en évidence de pathogènes éventuels.

Pour procéder à l'identification, les micro-organismes doivent se trouver en culture pure. L'identification définitive nécessite des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations.^{1-3,9-11}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Tous les lots de Dermatophyte Test Medium (DTM) Modified with Chloramphenicol sont soumis à des tests en usine permettant d'évaluer les caractéristiques de leurs performances. Des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés directement avec des cultures fraîches de *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Microsporum audouinii* ATCC 9079 et *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 cultivées sur des plaques **BBL** Sabouraud Dextrose Agar. Les récipients sont incubés à une température comprise entre 20 et 27 °C jusqu'à 7 jours en atmosphère aérobie. *T. mentagrophytes* et *M. audouinii* présentent une croissance moyenne à importante et un passage de la couleur du milieu du rose au rose. *A. brasiliensis* est partiellement à complètement inhibé.

XIII CONDITIONNEMENT


N° ref.	Description
---------	-------------


299701	BD BBL Dermatophyte Test Medium, Modified with Chloramphenicol Slants (géloses inclinées), carton de 10 tubes de taille C
--------	--

XIV REFERENCES

1. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
2. Summerbell, R.C. 2003. *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton* and agents of superficial mycoses, p. 1798-1819. In P.R. Murray, 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.
3. Kwon-Chung, and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
4. Taplin, D., N. Zaias, G. Rebell, and H. Blank. 1969. Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). Arch. Dermatol. 99:203-209.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Haley, L.D., J. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech 11, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical mycology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. Mycology, p. 983-1069. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 5th ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.
11. Larone, D.H. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com/ds.

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

 Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD