

BD Dermatophyte Test Medium Agar

VERWENDUNGSZWECK

BD Dermatophyte Test Medium Agar (BD Dermatophyten-Test-Medium-Agar) ist ein selektives Medium zur Isolierung von pathogenen Pilzen aus oberflächlichen Infektionen, wie z.B. Haut, Haare und Nägel. Es ist erhältlich als Schrägagar in Fläschchen mit Schraubverschluss.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Taplin et al. haben dieses Medium 1969 zur Isolierung von Dermatophyten aus Hautläsionen, wie z.B. Flechte, sowie aus Haaren, Nägeln, und Haut entwickelt.¹ Dieses Medium wird für die Isolierung von Dermatophyten empfohlen und eignet sich besonders zur Isolierung von *Microsporium*-, *Trichophyton*- und *Epidermophyton*-Genera.²⁻⁴

In **BD Dermatophyte Test Medium Agar** liefern Peptone den Stickstoff und sind die Quelle von alkalischen Produkten, welche von den Dermatophyten produziert werden. Wenn Peptone zu alkalischen Produkten umgewandelt werden, ändert sich die Farbe des Phenolrot-Indikators von gelb nach rot.³ Glucose wird als Nährstoffquelle zugegeben und um die Ansäuerung durch Pilze, welche primär Glucose verwerten können, zu erlauben. Die meisten Pilze außer Dermatophyten, einschließlich Hefen und filamentöse Pilze (wenn sie auf diesem Medium Wachstum zeigen), verwerten Glucose. Dies führt zur Säurebildung und zu keiner Farbveränderung von Phenolrot, welches als pH-Indikator dient. Cycloheximid hemmt das Wachstum von Schimmelpilzen und nicht pathogenen Hefen. Gentamicin und Tetracyclin sind antibakterielle Inhibitoren. Einige Organismen, einschließlich Saprophyten, Hefen und Bakterien, haben die Fähigkeit, auf diesem Medium zu wachsen und die Farbe von rot nach gelb zu verändern. Sie können jedoch leicht an ihrer unverwechselbaren Koloniemorphologie erkannt werden.

REAGENZIEN

BD Dermatophyte Test Medium Agar

Zusammensetzung* pro Liter destilliertem Wasser

Papainisch abgebautes Sojamehl	10,0 g
Glucose	10,0
Phenolrot	0,2
Cycloheximid	0,5
Gentamicin	0,1
Tetracyclin-HCl	0,1
Agar	20,0

pH 5,5 ± 0,2

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD. Nur für den professionellen Gebrauch.

Fläschchen bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Bei der Vorbereitung und Probenentnahme Schutzhandschuhe tragen. Hinweise zu Verfahren aseptischer Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des gebrauchten Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Fläschchen bis kurz vor der Anwendung im Dunkeln bei 2 – 8 °C aufbewahren. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Fläschchen können bis zum Verfallsdatum (s.

Kennzeichnung auf dem Behälter oder der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Fläschchen aus geöffneten Packungen können bis zum Verfallsdatum verwendet werden, wenn sie im Dunkeln gelagert werden. Geöffnete Fläschchen sofort verwenden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Fläschchen bei 25 - 30 °C gemäß den unten angeführten Zeiten aerob inkubieren.

Stämme	Wachstum
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533	Flaumige weiße Kolonien, rote Zonen im Medium um die Kolonien
* <i>Trichophyton equinum</i> (ATCC 22443)	Flaumige weiße Kolonien, rote Zonen im Medium um die Kolonien
*** <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	Kleine bis mittelgroße, weiße bis cremefarbene Kolonien; Medium gelb oder mit roten Zonen um die Kolonien
** <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
*** <i>Saccharomyces cerevisiae</i> NCPF 1211	Vollständig gehemmtes Wachstum
*** <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Vollständig gehemmtes Wachstum
*** <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	Vollständig gehemmtes Wachstum
*** <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	Vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Gelb, klar bis leicht opak

Inkubation: * 5 – 7 Tage; ** 4 – 5 Tage; *** 42 – 48 h

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Dermatophyte Test Medium Agar, Schrägagar in Fläschchen mit Schraubverschluss. Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

BD Dermatophyte Test Medium Agar ist ein selektives Differenzierungsmedium zur Isolierung von Dermatophyten aus klinischen Proben wie Nägeln, Haaren und Hautpartikeln (siehe auch **Testverfahren**). Abstriche aus infizierten Bereichen sind nicht geeignet als Proben zur Entnahme von Dermatophyten. Für weitere Einzelheiten sind die Literaturhinweise hinzuzuziehen.³⁻⁵ Dieses Medium darf nicht für Proben aus anderen als den unten beschriebenen Bereichen verwendet werden.

Probenentnahme und Testverfahren

Zur Probenentnahme immer sterile Instrumente verwenden. Schutzhandschuhe tragen, um Infektionen zu vermeiden!

Haut: Vor der Entnahme von Hautpartikeln, betroffene Stelle mit 70%igem Ethyl- oder Isopropyl-Alkohol reinigen. Partikel von trockenen und schuppigen Läsionen ausgehend von den entzündeten Rändern in Richtung gesunde Haut mit einem Skalpell abschaben. Einweg-Skalpelle können die Haut leicht verletzen (deshalb sollte bevorzugt der Klängenrücken benutzt werden). Große Bereiche gründlich abschaben und so viel Material wie möglich sammeln. Bei akut entzündeten oder vesikulären Läsionen muss die Haut der Blase mit Schere und Pinzette sorgfältig entfernt werden. Sie sollte zusammen mit dem Inhalt der Blase und, wenn möglich, Hautpartikeln aus dem umgebenden Bereich kultiviert werden.

Bei Infiltraten oder granulomatösen Vorgängen, Material mit einem scharfen Löffel oder einer Impflanzette aus den tieferen Schichten und aus Hautfalten entnehmen. Material auf einem Stück Filterpapier sammeln und das gesammelte Material in das Fläschchen mit **BD Dermatophyte Test Medium Agar** geben.

Haar: Wurzeln von stumpfen, glanzlosen Haaren mit einer Pinzette auszupfen. Infizierte Haare brechen und lösen sich leichter als gesunde Haare. Wird eine Wood-Lampe verwendet, fluoreszierende Haare entnehmen, selbst wenn sie bei Tageslicht gesund wirken. Wenn sogenannte schwarze Punkte erscheinen, infizierte Haare mit der Kante eines Skalpells an der Haarzwiebel herausheben. Keine abgeschnittenen Haare als Probe verwenden. Haare auf der Oberfläche des Mediums verteilen. Haare mit einer Pinzette leicht auf den Agar drücken.

Nägel: Im Falle einer subungualen Infektion sind alle stark deformierten Oberflächenteile der Nägel sorgfältig mit Schere, Nagelfeile oder Skalpell zu entfernen. Danach werden aus dem Nagelbett Nagelspäne entnommen.

Bei oberflächlichen Infektionen, Nagelspäne oder kleine staubartige Partikel von der Oberfläche des Nagelkörpers abschaben. Dazu wird am Besten eine Nagelfräse verwendet. Material auf einem sauberen Blatt Papier sammeln und in das Fläschchen geben.

Das Medium wird zur Isolierung von Dermatophyten, wie z.B. *Microsporum*, *Trichophyton* und *Epidermophyton*, verwendet. Gewisse pathogene Pilze sind gegenüber den selektiven Bestandteilen dieses Mediums empfindlich und werden auf diesem Medium gehemmt. Aus diesem Grund wird empfohlen, eine Platte **BD Sabouraud Glucose Agar**, **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol**, **BD Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol** oder **BD Sabouraud Agar with Penicillin and Streptomycin** mit einzubeziehen, um alle in der Probe vorhandenen pathogenen Pilze nachzuweisen.

Nach der Inokulation, Fläschchen 3 – 7 Tage bei 25 – 30 °C inkubieren. Wenn kein Wachstum festgestellt werden kann, Inkubation um eine Woche oder mehr, wenn nötig, verlängern. Es ist zu beachten, dass einige Dermatophyten eine Inkubationszeit von über drei Wochen benötigen können.

Ergebnisse

Fläschchen nach 3 – 6 Tagen auf Farbveränderung des Indikators von gelb nach rot oder pinkfarben und auf das Auftreten von typischen Dermatophyten-Kolonien überprüfen. Auch *Candida*-Spezies können anfänglich eine Farbveränderung nach rot bewirken. Die Interpretation der Farbreaktion auf diesem Medium ist bei einer Inkubationszeit von mehr als 2 Wochen zweifelhaft. Für eine vollständige Diagnose, besonders wenn auf **BD Dermatophyte Test Medium Agar** kein Wachstum aufgetreten ist, sind die mit den oben erwähnten Medien auf Sabouraud-Basis erzielten Ergebnisse zu berücksichtigen.

Auf Grund der großen Anzahl Dermatophyten wird hier auf eine detaillierte Beschreibung ihres Erscheinungsbildes verzichtet. Weitere Informationen liefert die entsprechende Literatur.²⁻⁵

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Dermatophyte Test Medium Agar eignet sich zur Isolierung von Dermatophyten (z.B. *Trichophyton*-, *Epidermophyton*- und *Microsporum*-Spezies) und darf nur für die Isolierung von Pilzen aus oberflächlichen Infektionen (Haut, Haaren und Nägeln) verwendet werden.²⁻⁵

Es ist kein Universal-Isolierungsmedium für Pilze. Statt dessen sollte zur Isolierung von Pilzen aus anderen Körperbereichen eines der unter **Probenentnahme und Testverfahren** erwähnten Medien auf Sabouraud-Basis verwendet werden.

Gewisse pathogene Pilze, einschließlich einiger *Microsporum*-Stämme, können von Cycloheximid gehemmt werden. Gelegentlich können Schimmelpilze und Hefen, welche auf diesem Medium gehemmt werden, Hautinfektionen verursachen. Aus diesem Grund wird empfohlen, alle Proben auch auf eines der unter **Probenentnahme und Testverfahren** erwähnten weniger selektiven Medien zu inokulieren. Geeignete Bestätigungstests müssen durchgeführt werden, um eine endgültige Identifizierung der auf diesen Medien isolierten Erreger zu erhalten.²⁻⁵

BD Dermatophyte Test Medium Agar oder die oben erwähnten Medien auf Sabouraud-Basis sind zur Isolierung von Bakterien, welche ebenfalls Hautinfektionen verursachen können, nicht geeignet. Wenn also eine bakterielle Infektion nicht ausgeschlossen werden kann, sind geeignete nicht selektive Plattenmedien, wie z.B. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, mit der Probe zu inokulieren.

Nach einer Inkubationszeit von 2 Wochen können gewisse saprophytische Pilze falsch-positive Reaktionen auf **BD Dermatophyte Test Medium Agar** verursachen.²

LITERATUR

1. Taplin, D., et al. 1969. Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). Arch. Dermatol. 99: 203.
2. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 275-284. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
3. 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. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Summerbell, R.C. 2003. Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton, and agents of superficial mycoses. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Larone, D.H. 1995: Medically important fungi - a guide to identification. 3rd edition. ASM Press, Washington.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Dermatophyte Test Medium Agar (Gebrauchsfertiges Flaschenmedium)

Best.-Nr. 257147 20 Fläschchen Schrägagar (15 mL) in 30 mL-Fläschchen mit Schraubverschluss

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



BD Diagnostic Systems
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
© 2003 Becton, Dickinson and Company