

BD Dermatophyte Test Medium Agar

USO PREVISTO

BD Dermatophyte Test Medium Agar (agar per test dei dermatofiti) è un terreno selettivo per l'isolamento di funghi patogeni da infezioni superficiali, ad es. cute, peli e unghie. Il terreno è disponibile su slant in fiale con tappo a vite.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Questo terreno è stato allestito nel 1969 da Taplin et al. per l'isolamento di dermatofiti da lesioni cutanee (dermatomicosi), peli, unghie e cute.¹ Il terreno è consigliato per l'isolamento dei dermatofiti e in particolare dei generi *Microsporum*, *Trichophyton* ed *Epidermophyton*.²⁻⁴

I peptoni contenuti nel **BD Dermatophyte Test Medium Agar** forniscono l'azoto e sono la fonte dei prodotti alcalini, formati dai dermatofiti. Quando i peptoni vengono metabolizzati in prodotti alcalini, l'indicatore rosso fenolo vira da giallo a rosso.³ Il glucosio viene aggiunto come nutriente e per consentire l'acidificazione dei funghi che utilizzano prevalentemente il glucosio. Il glucosio è utilizzato anche da molti funghi diversi dai dermatofiti, inclusi lieviti e funghi filamentosi (se crescono sul terreno). Ciò porta alla formazione di acido, ma senza che l'indicatore di pH rosso fenolo cambi colore. Cicloeximide inibisce muffe e lieviti non patogeni, mentre gentamicina e tetraciclina sono inibitori antibatterici. Alcuni organismi, ad es. saprofiti, lieviti e batteri, possono svilupparsi sul terreno cambiando colore da rosso a giallo, ma sono facilmente riconoscibili per la caratteristica morfologia delle colonie.

REAGENTI

BD Dermatophyte Test Medium Agar

Formula* per litro di acqua purificata

Digerito papaico di farina di soia	10,0 g
Glucosio	10,0
Rosso fenolo	0,2
Cicloeximide	0,5
Gentamicina	0,1
Tetraciclina HCl	0,1
Agar	20,0

pH 5,5 ± 0,2

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale.

Non usare le fiale se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione cromatica, essiccamento, fessurazioni o altri segni di deterioramento.

Indossare guanti protettivi durante la preparazione e il prelievo dei campioni. Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le fiale al buio a 2 – 8 °C fino a immediatamente prima dell'uso.

Evitare congelamento e surriscaldamento. Le fiale possono essere inoculate fino alla data di scadenza (v. il contenitore o l'etichetta sulla confezione) e incubate per il tempo necessario.

Le fiale prelevate dalle confezioni aperte, se conservate al buio, possono essere usate fino alla data di scadenza. Le fiale aperte devono essere utilizzate immediatamente.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare le fiale in aerobiosi a 25 – 30 °C per il tempo indicato sotto la tabella.

Ceppi	Risultati della crescita
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533	Colonie bianche lanose, con zone rosse nel terreno circostante le colonie
* <i>Trichophyton equinum</i> ATCC 22443	Colonie bianche lanose, con zone rosse nel terreno circostante le colonie
*** <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Colonie medio-piccole, da bianche a color crema, terreno giallo o con zone rosse intorno alle colonie
** <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Inibizione da parziale a completa
*** <i>Saccharomyces cerevisiae</i> NCPF 1211	Inibizione completa
*** <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibizione completa
*** <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	Inibizione completa
*** <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inibizione completa
Non inoculate	Gialle, da chiare a lievemente opache

Incubazione - * 5 – 7 giorni; ** 4 – 5 giorni; *** 42 – 48 h

PROCEDURA

Materiali forniti

Slant **BD Dermatophyte Test Medium Agar** in fiale con tappo a vite. Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipi di campioni

BD Dermatophyte Test Medium Agar è un terreno differenziale selettivo per l'isolamento di dermatofiti da campioni clinici come unghie, peli e squame epidermiche (v. anche **Procedura del test**). I tamponi delle aree infette non sono adatti come campioni per il prelievo di dermatofiti. Per ulteriori informazioni, consultare la bibliografia.³⁻⁵ Non usare il terreno per campioni prelevati da siti diversi da quelli descritti più avanti.

Prelievo dei campioni e procedura del test

Utilizzare sempre strumenti sterili per il prelievo dei campioni. Indossare guanti protettivi per evitare qualsiasi infezione.

Cute - Prima di rimuovere le squame epidermiche, detergere il sito interessato con alcol etilico o isopropilico al 70%. Rimuovere le squame dalle lesioni secche e squamate, raschiando con un bisturi dai bordi infiammati verso la cute sana. I bisturi monouso possono facilmente ledere la cute (è preferibile usare solo il retro della lama). Raschiare completamente ampie zone e raccogliere quanto più materiale possibile. In presenza di lesioni acute infiammate o vescicolari, la cute della vescicola deve essere accuratamente rimossa con forbici e pinze. Eseguire la coltura utilizzando la cute rimossa, il contenuto della vescicola e, se possibile, le scaglie dell'area circostante.

In presenza di infiltrati o processi granulomatosi, prelevare il materiale in profondità e dalle pieghe cutanee utilizzando un cucchiaino tagliente o un bisturi per vaccinazione. Raccogliere il materiale su un pezzo di carta da filtro e introdurre il materiale prelevato nella fiala contenente **BD Dermatophyte Test Medium Agar**.

Peli - Estirpare con una pinza le radici dei peli da una zona insensibile e opaca. I peli infetti si spezzano e cadono più facilmente dei peli sani. Se si usa la luce di Wood, prelevare i peli fluorescenti anche se alla luce del giorno appaiono sani. Se sono presenti le cosiddette macchie nere, asportare il pelo infetto dal bulbo usando il margine del bisturi. Non usare i peli tagliati

come campione. Sistemare i peli sulla superficie del terreno. Premere delicatamente i peli sull'agar usando le pinze.

Unghie - In caso di infezione subungueale, tutte le parti notevolmente deformate della superficie dell'unghia vengono rimosse con cura utilizzando forbici, lima o bisturi. I frammenti di unghia vengono poi prelevati dal letto ungueale.

In caso di infezione superficiale, i frammenti di unghia o i granelli più piccoli vengono raschiati dalla superficie del corpo ungueale. È preferibile usare una fresa per unghie. Raccogliere il materiale su un pezzo di carta pulito e riversarlo nella fiala.

Il terreno viene utilizzato per l'isolamento di dermatofiti come *Microsporum*, *Trichophyton* ed *Epidermophyton*. Alcuni funghi patogeni vengono inibiti perché sensibili agli ingredienti selettivi del terreno. Si consiglia, pertanto, di aggiungere una piastra di **BD Sabouraud Glucose Agar**, **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol**, **BD Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol** o **BD Sabouraud Agar with Penicillin and Streptomycin** per fornire un'indicazione su tutti i patogeni fungini presenti nel campione.

Dopo l'inoculazione, incubare a 25 – 30 °C per 3 – 7 giorni. Se non si osserva alcuna crescita, protrarre l'incubazione per un'altra settimana o più a lungo, se necessario. Alcuni dermatofiti potrebbero richiedere un periodo di incubazione superiore a 3 settimane.

Risultati

Esaminare le fiale dopo 3 – 6 giorni per controllare se l'indicatore è virato da giallo a rosso o rosa e se sono presenti le tipiche colonie di dermatofiti. Anche *Candida* spp. può produrre inizialmente un viraggio del colore al rosso. La reazione di colorazione è difficilmente interpretabile su questo terreno dopo 2 settimane di incubazione. Per una diagnosi definitiva, in particolare se non appare alcuna crescita su **BD Dermatophyte Test Medium Agar**, valutare i risultati ottenuti sui precedenti terreni a base Sabouraud.

A causa dell'ampio numero di dermatofiti, è impossibile fornire in questa sede informazioni dettagliate sul loro aspetto. Consultare la bibliografia.²⁻⁵

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD Dermatophyte Test Medium Agar è adatto per l'isolamento di dermatofiti (ad es. *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum* spp.) e deve essere utilizzato solo per individuare i funghi nelle infezioni superficiali (cute, peli e unghie).²⁻⁵

Non si tratta, infatti, di un terreno di isolamento universale per funghi. Per l'isolamento dei funghi da altri siti corporei usare invece uno dei terreni a base Sabouraud menzionati nella sezione

Prelievo dei campioni e procedura del test.

Alcuni funghi patogeni, inclusi determinati ceppi di *Microsporum*, possono essere inibiti dal cicloeximide. A volte, le muffe e i lieviti che vengono inibiti su questo terreno possono provocare infezioni cutanee. Si consiglia, pertanto, di inoculare tutti i campioni su uno dei terreni meno selettivi menzionati nella sezione **Prelievo dei campioni e procedura del test**. Eseguire i test appropriati per confermare definitivamente l'identificazione dei patogeni isolati su questi terreni.²⁻⁵

BD Dermatophyte Test Medium Agar o i succitati terreni a base Sabouraud non sono adatti per isolare i batteri che possono provocare infezioni cutanee. Se si sospetta un'infezione batterica, pertanto, inoculare con il campione un terreno non selettivo adatto, come **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**.

Dopo 2 settimane di incubazione, alcuni funghi saprofitici possono dare false reazioni di positività su **BD Dermatophyte Test Medium Agar**.²

BIBLIOGRAFIA

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. Tenover (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. Tenover (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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Dermatophyte Test Medium Agar (terreno in flacone pronto all'uso)

N. di cat. 257147 cpu 20 slant (15 mL) in fiale da 30 mL con tappo a vite

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



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