BBL Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol

8814091 • Rev. 03 • April 2015

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol (Dermatophyt-Testmedium, modifiziert mit Chloramphenicol) ist ein selektives und differenziertes Medium zum Nachweis und zur präsumtiven Identifikation von Dermatophyten in klinischen und veterinärmedizinischen Proben.

II TESTDURCHFÜHRUNG

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
   a. Für *E. coli* und *P. aeruginosa* ein Inokulat von 1 µL (0,001 mL) von 4 – 5 h alten Kulturen von **Trypticase** Soy Broth ausstreichen, die auf 10^6 – 10^7 KBE/mL verdünnt wurde.
   b. Bei Pilzorganismen anhand von frischen Pilzkulturen (bis zu einem Monat alt) direkt von der Stammplatte inokulieren.
   c. Bei 25 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren.
   d. Platten einer zuvor getesteten Charge TSA with 5 % Sheep Blood als Kontrollen für *E. coli* und *P. aeruginosa* mittesten. Platten einer zuvor getesteten Charge Sabouraud Dextrose Agar als Kontrollen für die übrigen Organismen verwenden.
2. Platten in Intervallen bis zu 7 Tage auf Wachstum und Selektivität überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

Organismen	ATCC	Isolierung	Mediumfärbung
**Aspergillus brasiliensis*	16404	Hemmung (teilweise bis vollständig)	N. z.
Escherichia coli	25922	Hemmung (teilweise bis vollständig)	N. z.
**Microsporum audouinii*	9079	Mittleres bis starkes Wachstum	Rosa bis rot
**Pseudomonas aeruginosa*	10145	Hemmung (teilweise bis vollständig)	N. z.
**Trichophyton mentagrophytes*	9533	Mittleres bis starkes Wachstum	Rosa bis rot

* Empfohlener Organismusstamm für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Platten wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben untersuchen.
2. Die repräsentativen Platten im Hinblick auf Beschädigungen sichtprüfen, durch die ihre Verwendung beeinträchtigt werden könnte.
3. Den pH-Wert potentiometrisch bei Raumtemperatur überprüfen, um festzustellen, ob die Spezifikation von 5,5 ± 0,2 eingehalten wird.
4. Die Festigkeit des Agarbetts während der Inokulation beachten.
5. Unbeimpfte repräsentative Platten 72 h lang bei 33 – 37 °C und 20 – 25 °C inkubieren und im Hinblick auf mikrobielle Kontamination untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Dermatophyte Test Medium (DTM) ist ein selektives und differenziertes Medium zum Nachweis und zur präsumtiven Identifikation von Dermatophyten in klinischen Proben. Aufgrund der Nichtverfügbarkeit eines der Hemmstoffe, Chlortetracyclin, wird das mit Chloramphenicol modifizierte Dermatophyt-Testmedium (DTM) als Substitut für die Original-DTM-Formulierung empfohlen.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Dermatophyten verursachen kutane Pilzinfektionen des Haars, der Haut und der Nägel, die im Allgemeinen als Ringelflechte oder Herpes bezeichnet werden.[1-3] Mitglieder der Gattungen *Trichophyton*, *Microsporum* und *Epidermophyton* sind die bekanntesten Erreger dieser Infektionen.

Taplin et al. entwickelten DTM als Screening-Medium zur selektiven Isolierung und zum Nachweis von Dermatophyten in klinischen Proben.[4] Eine Kombination aus drei antimikrobiellen Wirkstoffen (Cycloheximid, Chlortetracyclin und Gentamycin) hemmte Bakterien und saprophytische Hefen und Schimmelpilze. Da Chlortetracyclin Ende 1992 nicht verfügbar war, wurde es durch Chloramphenicol ersetzt.

Dermatophyten werden präsumtiv nachgewiesen, basierend auf der Makromorphologie und der Bildung alkalischer Metaboliten, die den pH-Wert erhöhen und dazu führen, dass der Phenolrot-Indiktator die Farbe des Mediums von gelb nach rosa bis rot ändert.[2-4] Taplin et al. berichteten, dass sie mit dem Medium (mit Chlortetracyclin) in 97 von 100 Fällen Dermatophyten genau nachweisen konnten.[4]

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Papainisch abgebautes Sojabohnenmehl liefert die für das Pilzwachstum erforderlichen Aminosäuren und anderen stickstoffhaltigen Substanzen. Dextrose ist ein Energielieferant. Phenolrot soll als kolorimetrischer Indikator den Anstieg des ph-Wertes im Medium dokumentieren.

Antimikrobielle Wirkstoffe verbessern die Gewinnung von Dermatophyten durch die Hemmung von Bakterien und saprophytischen Pilzen. Cycloheximid ist ein Fungizid, das gegen saprophytische Hefen und Schimmelpilze wirksam ist, jedoch keine Wirkung gegen Dermatophyten entfaltet. Chloramphenicol ist ein Breitbandantibiotikum, das eine Vielzahl grampositiver und gramnegativer Bakterien hemmt. Gentamicin ist ein Aminoglykosid-Antibiotikum, welches gramnegative und einige grampositive Bakterien, einschließlich Staphylokokken, hemmt.

VII REAGENZIEN

Dermatophyte Test Medium, Modified with Chloramphenicol

Ungefähre Zusammensetzung* pro Liter destilliertes Wasser

Papainisch abgebautes Sojamehl	10,0 g	Cycloheximid	0,5 g
Dextrose	10,0 g	Gentamicin	0,1 g
Agar	24,0 g	Chloramphenicol	0,1 g
Phenolrot	0,2 g		

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen: *In-vitro*-Diagnostikum.

Röhrchen und Fläschchen mit fest sitzenden Verschlusskappen sind vorsichtig zu öffnen, um Verletzungen durch Glasbruch zu vermeiden.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z. B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“[5-8] sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Präparierte Platten, Fläschchen, Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien im Autoklav sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung: Röhrchen nach Erhalt bei 2 bis 8 °C im Dunkeln aufbewahren. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. Medien in Röhrchen, die vor Gebrauch gemäß der Anleitung auf dem Etikett gelagert werden, können bis zum Verfallsdatum inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts: Medium bei Anzeichen von Kontamination durch andere Mikroorganismen, Verfärbung, Eintrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Einzelheiten zur Probenentnahme und -handhabung sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.[1-3,9]

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren: Aseptisch vorgehen.

Das Medium nach Eintreffen der Probe im Labor schnellstmöglich inokulieren. Die Probe mittig auf die Agaroberfläche geben und vorsichtig in den Agar drücken, um einen festen Kontakt mit dem Medium zu gewährleisten.

Die Verschlusskappe locker aufsetzen, damit die Luft zirkulieren kann. Bis zu 14 Tage bei 22 – 25 °C inkubieren.

Qualitätskontrolle durch den Anwender: Siehe „Maßnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Anwendern wird geraten, die relevanten CLSI-Richtlinien und CLIA-Vorschriften über geeignete Maßnahmen zur Qualitätskontrolle einzusehen.

X ERGEBNISSE

Dermatophyten zeigen nach 10 bis 14 Inkubationstagen eine typische Morphologie und eine rosa bis rote Farbe im Medium, um die Kolonie herum. Farbänderungen nach dem 14. Inkubationstag außer Acht lassen, da sie durch kontaminierte Pilzen verursacht worden sein können.[4]

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Ein einzelnes Medium reicht selten zum Nachweis aller potenziell signifikanten Organismen in einer Probe aus. Die Wirkstoffe in selektiven Medien können einige Stämme der gewünschten Spezies hemmen oder das Wachstum einer Spezies zulassen, die sie eigentlich hemmen sollten, besonders, wenn diese Spezies sehr zahlreich in der Probe vertreten ist. Auf selektiven Medien kultivierte Proben sollten deshalb auch auf nichtselektiven Medien kultiviert werden, um zusätzliche Informationen zu erhalten und die Isolierung potenzieller Pathogene sicherzustellen.

Zur Identifizierung müssen die Organismen in Reinkultur vorliegen. Morphologische, biochemische und/oder serologische Tests sollten für den endgültigen Nachweis durchgeführt werden. Nähere Informationen sind der entsprechenden Literatur zu entnehmen.[1-3,9-11]

XII LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von mit Chloramphenicol modifizierten Dermatophyt-Testmedium (DTM) auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Repräsentative Proben der Charge werden direkt mit frischen, auf **BBL** Sabouraud-Dextrose-Agarplatten angesetzten Kulturen von *Trichophyton mentagrophytes*, ATCC 9533, *Microsporum audouinii*, ATCC 9079 und *Aspergillus brasiliensi*s , ATCC 16404 inokuliert. Die Behälter werden bis zu 7 Tage bei 20 – 27 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubiert. Bei *T. mentagrophytes* und *M. audouinii* ist ein mäßiges bis starkes Wachstum und eine rosa/rote Farbentwicklung im Medium zu beobachten. *A. brasiliensi*s ist teilweise bis vollständig gehemmt.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
299701	**BD BBL** Dermatophyte Test Medium, Modified with Chloramphenicol Slants, Packung mit 10 Röhrchen der Größe 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. Yolken (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.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder www.bd.com/ds.

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

EC REP 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