



**BBL Dermatophyte Test Medium (DTM),
Modified with Chloramphenicol**
8814091 • wersja 03 • kwiecień 2015



PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

I WPROWADZENIE

Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol (podłoże testowe dermatofitów, modyfikowane chloramfenikolem) jest selektywnym podłożem różnicującym, stosowanym do wykrywania i wstępnej identyfikacji dermatofitów w próbkach klinicznych i weterynaryjnych.

II PROCEDURA TESTU WYDAJNOŚCI

- Wykonać posiew reprezentacyjnej próby podłoża hodowlami wymienionych poniżej szczepów.
 - W przypadku *E. coli* i *P. aeruginosa* zaszczerpić pasmowo 1 µL (0,001 mL) z 4 – 5 h hodowli na podłożu **Trypticase Soy Broth** rozcieńczonym w celu uzyskania 10^6 – 10^7 CFU/mL.
 - W przypadku grzybów zaszczerpić bezpośrednio z płytek macierzystych przy użyciu świeżych hodowli grzybów (do jednego miesiąca).
 - Inkubować w temperaturze $25 \pm 2^\circ\text{C}$ w warunkach tlenowych.
 - Dołączyć płytki z wcześniej badaną serią TSA z 5% krwią baranią jako kontrolami *E. coli* i *P. aeruginosa*; użyć płytek z wcześniej badaną serią podłoża Sabouraud Dextrose Agar jako kontrolami pozostałych szczepów.
- Zbadać płytki w odstępach maksymalnie do 7 dni pod kątem wzrostu i selektywności.
- Oczekiwane wyniki

Drobnoustroje	ATCC	Odzysk	Zabarwienie podłoża
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Zahamowanie (częściowe do całkowitego)	Nd.
<i>Escherichia coli</i>	25922	Zahamowanie (częściowe do całkowitego)	Nd.
* <i>Microsporum audouinii</i>	9079	Wzrost od umiarkowanego do intensywnego	Zabarwienie od różowego do czerwonego
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	Zahamowanie (częściowe do całkowitego)	Nd.
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Wzrost od umiarkowanego do intensywnego	Zabarwienie od różowego do czerwonego

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

- Sprawdzić płytki zgodnie z opisem w części „Pogorszenie jakości produktu”.
- Wzrokowo ocenić reprezentatywne płytki, aby upewnić się, że żadne wady fizyczne nie będą przeszkadzały w ich użytkowaniu.
- Określić potencjometrycznie wartość pH w temperaturze pokojowej, aby upewnić się, że odczyn jest zgodny ze specyfikacją i wynosi $5,5 \pm 0,2$.
- W czasie procedury zaszczerpienia zwrócić uwagę na twardość podłoża agarowego.
- Inkubować niezaszczerpienie, reprezentatywne płytki w temperaturze $33 - 37^\circ\text{C}$ oraz $20 - 25^\circ\text{C}$ przez 72 godziny, po czym zbadać je pod kątem skażenia mikrobiologicznego.

INFORMACJA O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

Dermatophyte Test Medium (podłoże testowe dermatofitów, DTM) jest selektywnym podłożem różnicującym, stosowanym do wykrywania i wstępnej identyfikacji dermatofitów w próbkach klinicznych. Ze względu na niedostępność jednego ze środków hamujących wzrost - chlorotetracykliny, Dermatophyte Test Medium, Modified with Chloramphenicol (podłoże testowe dermatofitów, DTM, modyfikowane chloramfenikolem) jest zalecane jako substytut oryginalnego składu DTM.

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Dermatofity powodują skórne infekcje grzybicze włosów, skóry i paznokci, ogólnie określane mianem grzybicy skóry i jej przydatków lub grzybicy wywołanej przez dermatofity.¹⁻³ Do najczęstszych czynników etiologicznych tych infekcji należą członkowie rodzajów *Trichophyton*, *Microsporum* i *Epidermophyton*.

Taplin i wsp. opracowali DTM jako podłoże przesiewowe do selektywnej izolacji i wykrywania dermatofitów z próbek klinicznych.⁴ Połączenie trzech środków przeciwdrobnoustrojowych (cykloheksymidu, chlorotetracykliny i gentamycyny) hamowało wzrost bakterii oraz saprofitycznych drożdży i pleśni. Niedostępność chlorotetracykliny pod koniec 1992 r. spowodowała, że zastąpiono ją chloramfenikolem.

Dermatofity wstępnie oznacza się na podstawie morfologii makroskopowej i wytwarzania metabolitów zasadowych, które podwyższają pH i powodują zmianę barwy wskaźnika - czerwieni fenolowej, w podłożu z żółtej na różową do czerwonej.²⁻⁴ Taplin i wsp. donosili, że podłoże (z chlorotetracykliną) identyfikuje dermatofity z 97 – 100% precyzją.⁴

VI ZASADY PROCEDURY

Papainowy wyciąg mączki sojowej dostarcza aminokwasy i inne substancje azotowe, konieczne do wzrostu grzybów. Źródłem energii jest dekstroza. Czerwień fenolową (wskaźnik kolorymetryczny) dodaje się w celu wizualizacji wzrostu pH podłoża.

Środki przeciwdrobnoustrojowe poprawiają odzysk dermatofitów, hamując wzrost bakterii i grzybów saprofitycznych. Cykloheksymid to środek przeciwgrzybiczy, który jest czynny przede wszystkim wobec saprofitycznych drożdży i pleśni, ale nie jest aktywny wobec dermatofitów. Chloramfenikol jest antybiotykiem o szerokim spektrum działania, który hamuje wzrost wielu różnych bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich. Gentamycyna to antybiotyk aminoglikozydowy, który hamuje wzrost bakterii Gram-ujemnych oraz Gram-dodatnich, w tym gronkowców.

VII ODCZYNNIKI

Dermatophyte Test Medium, Modified with Chloramphenicol

Przybliżony skład* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

Papainowy wyciąg mączki sojowej.....	10,0 g	Cykloheksymid.....	0,5 g
Dekstroza	10,0 g	Gentamycyna.....	0,1 g
Agar.....	24,0 g	Chloramfenikol.....	0,1 g
Czerwień fenolowa	0,2 g		

*Skorygowany i/lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami, których celem jest spełnienie kryteriów wydajności.

Ostrzeżenia i środki ostrożności: Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Probówki i butelki z ciasno dopasowanymi zatyczkami należy otwierać ostrożnie, żeby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

W próbkach klinicznych mogą być obecne drobnoustroje patogenne, takie jak wirusy zapalenia wątroby i HIV. Podczas pracy z wszelkimi materiałami zanieczyszczonymi krwią i innymi płynami ustrojowymi należy stosować „Standardowe środki ostrożności”⁵⁻⁸ oraz przestrzegać wytycznych obowiązujących w danym laboratorium. Gotowe podłoża na płytkach, butelki, pojemniki na próbki oraz inne skażone wyposażenie i materiały przed wyrzuceniem należy poddać sterylizacji w autoklawie.

Przechowywanie: Otrzymane probówki umieścić i przechowywać w ciemnym miejscu, w temperaturze 2 – 8°C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać bezpośrednio przed użyciem. Ograniczać do minimum ekspozycję na światło. W podłożach, które do momentu użycia przechowuje się w probówkach zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

Pogorszenie jakości produktu: Nie używać podłoża w przypadku widocznych oznak skażenia mikrobiologicznego, zmian zabarwienia, wysychania lub innych objawów świadczących o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Szczegółowe informacje dotyczące pobierania próbek i postępowania z nimi są dostępne w literaturze fachowej^{1-3,9}.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały: Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol

Materiały wymagane, ale niedostarczane: Pomocnicze podłoża hodowlane, odczynniki, drobnoustroje do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodne z wymaganiami.

Procedura testowa: Stosować techniki aseptyczne.

Zaszczepić pożywkę bezpośrednio po dostarczeniu próbki do laboratorium. Umieścić próbkę na środku powierzchni agaru i lekko wcisnąć w agar, tak aby zapewnić dobry kontakt z podłożem.

Założyć luźno nakrętkę w celu zapewnienia obiegu powietrza i inkubować w temperaturze 22 – 25°C do 14 dni.

Kontrola jakości przez użytkownika: Patrz „Procedury kontroli jakości”.

Należy spełniać wymagania kontroli jakości zgodnie z odpowiednimi przepisami prawa lokalnego, stanowego i/lub federalnego, z wymaganiami akredytacji i standardowymi procedurami kontroli jakości danego laboratorium. Zaleca się skorzystanie z odpowiednich wytycznych CLSI lub przepisów CLIA w celu ustalenia właściwych zasad kontroli jakości.

X WYNIKI

Dermatofity powodują charakterystyczną morfologię oraz różowe do czerwonego zabarwienie podłoża wokół kolonii w ciągu 10 do 14 dni inkubacji. Po czternastym dniu inkubacji należy ignorować zmiany barwy, ponieważ mogą być one spowodowane przez zanieczyszczenie grzybami.⁴

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Do wykrycia wszystkich potencjalnie istotnych drobnoustrojów w próbce rzadko wystarcza jedno podłoże. Składniki podłoża selektywnego mogą hamować wzrost niektórych pożądaných gatunków lub umożliwiać wzrost gatunków, które powinny hamować, zwłaszcza jeśli ich liczba w próbce jest duża. Zatem oprócz hodowli posiewów z danej próbki na podłożach selektywnych należy również wykonać posiew na podłożach nieselektywnych, co pozwala uzyskać dodatkowe informacje i zapewnić wzrost wszystkich potencjalnych patogenów.

Do identyfikacji niezbędne są czyste kultury drobnoustrojów. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne lub serologiczne. Dodatkowe informacje można znaleźć w odpowiednich publikacjach.^{1-3,9-11}

XII CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

Przed dopuszczeniem do obrotu wszystkie partie podłoża Dermatophyte Test Medium (DTM) Modified with Chloramphenicol sprawdza się pod kątem ich skuteczności. Reprezentatywne próbki partii są bezpośrednio zaszczepiane świeżymi hodowlami *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Microsporium audouinii* ATCC 9079 oraz *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, hodowanymi na płytkach agaru dekstrozowego **BBL** Sabouraud Dextrose Agar. Pojemniki probówki inkubuje się w ciągu siedmiu dni w temperaturze 20 – 27°C w warunkach tlenowych. W przypadku *T. mentagrophytes* i *M. audouinii* obserwuje się umiarkowany lub bardzo dobry wzrost, połączony z występowaniem różowego/czerwonego zabarwienia podłoża. Wzrost *A. brasiliensis* ulega częściowemu lub całkowitemu zahamowaniu.

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat. Opis

299701 **BD BBL** Dermatophyte Test Medium, Modified with Chloramphenicol Slants, opakowanie 10 probówek o rozmiarze C

XIV PIŚMIENICTWO

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. Tenenbaum (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.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę 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