



BBL Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol

8814091 • Rev. 03 • abril 2015



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol (medio de prueba de dermatofitos, modificado con cloranfenicol) es un medio selectivo y de diferenciación utilizado para la detección e identificación presuntiva de dermatofitos a partir de muestras clínicas y veterinarias.

II PROCEDIMIENTO DE PRUEBA DE RENDIMIENTO

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Para *E. coli* y *P. aeruginosa*, inocular por estrías 1 µL (0,001 mL) procedente de un cultivo de 4 – 5 h de caldo de cultivo **Trypticase** Soy Broth diluido para obtener 10^6 – 10^7 UFC/mL.
 - b. Para organismos fúngicos, inocular directamente de una placa de reserva utilizando cultivos fúngicos frescos (de un máximo de un mes de edad).
 - c. Incubar a 25 ± 2 °C en una atmósfera aerobia.
 - d. Incluir placas de un lote anteriormente analizado de TSA con sangre de carnero al 5% como controles para *E. coli* y *P. aeruginosa*; utilizar placas de un lote anteriormente analizado de Sabouraud Dextrose Agar como controles para el resto de los organismos.
2. Examinar las placas a intervalos durante un máximo de 7 días para comprobar el crecimiento y la selectividad.
3. Resultados previstos

Organismos	ATCC	Recuperación	Coloración del medio
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Inhibición (parcial a completa)	N/A
<i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibición (parcial a completa)	N/A
* <i>Microsporum audouinii</i>	9079	Crecimiento de moderado a denso	Rosa a rojo
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	Inhibición (parcial a completa)	N/A
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Crecimiento de moderado a denso	Rosa a rojo

*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar las placas como se describe en la sección “Deterioro del producto”.
2. Examinar visualmente las placas representativas para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Determinar el pH potenciométricamente a temperatura ambiente para verificar el cumplimiento de la especificación de $5,5 \pm 0,2$.
4. Tomar en cuenta la firmeza de los lechos de agar durante el procedimiento de inoculación.
5. Incubar placas representativas no inoculadas a $33 - 37$ °C y $20 - 25$ °C durante 72 h y examinar para detectar contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

DTM (medio de prueba de dermatofitos) es un medio selectivo y de diferenciación utilizado para la detección e identificación presuntiva de dermatofitos a partir de muestras clínicas. Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol está recomendado como sustituto de la fórmula original del DTM por la falta de disponibilidad uno de los agentes inhibidores, la clorotetraciclina.

V RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Los dermatofitos causan infecciones fúngicas cutáneas del cabello, piel y uñas y reciben por lo general el nombre de tiña¹⁻³. Los miembros de los géneros *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton* son los agentes etiológicos más comunes de estas infecciones.

Taplin et al desarrollaron DTM como medio de detección para el aislamiento selectivo y la detección de dermatofitos a partir de muestras clínicas⁴. Una combinación de tres agentes antimicrobianos (cicloheximida, clorotetraciclina y gentamicina) inhibían las bacterias y las levaduras y hongos saprofitos. Debido a la falta de disponibilidad de clorotetraciclina a fines de 1992, fue necesario sustituirla por cloranfenicol.

Los dermatofitos se identifican presuntivamente por su morfología macroscópica y por la producción de metabolitos alcalinos, que aumentan el pH y hacen que el indicador de rojo fenol cambie el color del medio de amarillo a rosa y rojo²⁻⁴. Taplin et al reseñaron que el medio (con clorotetraciclina) presenta una precisión de 97 a 100% para la identificación de dermatofitos⁴.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El digerido papáinico de harina de soja proporciona aminoácidos y otras sustancias nitrogenadas necesarias para favorecer el crecimiento fúngico. La dextrosa es una fuente de energía. El rojo fenol, un indicador colorimétrico, se incluye para visualizar el aumento de pH en el medio.

Los agentes antimicrobianos mejoran la recuperación de los dermatofitos al inhibir las bacterias y los hongos saprofitos. La cicloheximida es un agente antifúngico activo contra las levaduras y hongos saprofitos, pero inactiva contra los dermatofitos. El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro que inhibe una amplia variedad de bacterias gram positivas y gram negativas. La gentamicina es un antibiótico aminoglucósido que inhibe las bacterias gram negativas y algunas gram positivas, incluidos los estafilococos.

VII REACTIVOS

Dermatophyte Test Medium, Modified with Chloramphenicol

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido papaínico de harina de soja	10,0 g	Cicloheximida.....	0,5 g
Dextrosa	10,0 g	Gentamicina.....	0,1 g
Agar.....	24,0 g	Cloranfenicol	0,1 g
Rojo fenol	0,2 g		

*Ajustada y/o complementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

Advertencias y precauciones: Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos y frascos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"⁵⁻⁸ y las directrices del centro. Antes de desecharlos, esterilizar en autoclave las placas preparadas, los frascos, recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado.

Instrucciones de almacenamiento: Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 8 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que se vayan a utilizar. Reducir al mínimo la exposición a la luz. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos recomendados de incubación. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto: No utilizar el medio si muestra evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII. RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Consultar los textos correspondientes para obtener detalles acerca de los procedimientos de recogida y manipulación de las muestras^{1-3,9}.

IX PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis: Cumplir las técnicas asépticas.

Inocular el medio tan pronto como sea posible después de recibir la muestra en el laboratorio. Colocar la muestra en el centro de la superficie del agar y presionarla ligeramente en el agar para asegurar un contacto firme con el medio.

Reemplazar la tapa sin ajustar para permitir la circulación de aire e incubar a 22 – 25 °C durante un máximo de 14 días.

Control de calidad del usuario: Véase "Procedimientos de control de calidad".

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones pertinentes del CLSI y la normativa de la CLIA para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X RESULTADOS

Los dermatofitos producen una morfología característica y un color de rosa a rojo en el medio alrededor de la colonia a los 10 – 14 días de incubación. Desestimar los cambios de color después del día catorce de incubación, ya que pueden deberse a hongos contaminantes⁴.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Sólo en raras ocasiones es posible detectar en un único medio todos los organismos de importancia potencial en una muestra. Los agentes de los medios selectivos pueden inhibir algunas cepas de las especies deseadas o permitir el crecimiento de una especie que supuestamente debían inhibir, en especial si la especie está presente en grandes cantidades en la muestra. Las muestras cultivadas en medios selectivos, por consiguiente, también deben cultivarse en medios no selectivos para obtener información adicional y favorecer la recuperación de patógenos potenciales.

Para su identificación, los organismos se deben encontrar en cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información^{1-3,9-11}.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol se analizan para determinar sus características de rendimiento. Se inoculan muestras representativas del lote directamente con cultivos recientes de *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Microsporum audouinii* ATCC 9079 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, cultivados en placas con BBL Sabouraud Dextrose Agar. Los recipientes se incuban a 20 – 27 °C durante un máximo de siete días en atmósfera aerobia. Se observa un crecimiento de moderado a denso y de color rosa/rojo en el medio con *T. mentagrophytes* y *M. audouinii*. *A. brasiliensis* es inhibido entre parcial y completamente.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
------------	-------------

299701	BD BBL Dermatophyte Test Medium, Modified with Chloramphenicol Slants, pqt. de 10 tubos de tamaño C
--------	---

XIV REFERENCIAS

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.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite 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