



BBL Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol



8814091 • Rev. 03 • aprile 2015

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol (terreno per test di dermatofiti, modificato con cloramfenicolo) è un terreno selettivo e differenziale per la rilevazione e identificazione presuntiva di dermatofiti da campioni clinici e veterinari.

II PROCEDURA DEL TEST

- Inoculare dei campioni rappresentativi con le colture sottoelencate.
 - Per *E. coli* e *P. aeruginosa* inoculare per striscio 1 µL (0,001 mL) di una coltura di 4 – 5 h di **Trypticase Soy Broth** diluito fino a 10^6 – 10^7 CFU/mL.
 - Per organismi fungini, inoculare direttamente dalla piastra stock utilizzando colture fungine fresche (non più vecchie di un mese).
 - Incubare a 25 ± 2 °C in aerobiosi.
 - Includere piastre di un lotto precedentemente testato di TSA con 5% di sangue di montone come controlli per *E. coli* e *P. aeruginosa*; usare piastre di un lotto precedentemente testato di Sabouraud Dextrose Agar come controlli per gli organismi rimanenti.
- Esaminare la crescita e la selettività nelle piastre a intervalli per un massimo di 7 giorni.
- Risultati attesi

Microrganismi	ATCC	Isolamento	Colorazione del terreno
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Inibizione (da parziale a completa)	Non pertinente
<i>Escherichia coli</i>	25922	Inibizione (da parziale a completa)	Non pertinente
* <i>Microsporum audouinii</i>	9079	Crescita moderata – intensa.	Rosa-rosso
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	Inibizione (da parziale a completa)	Non pertinente
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Crescita moderata – intensa.	Rosa-rosso

*Ceppo batterico raccomandato per il controllo di qualità a cura dell'utente.

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

- Esaminare le piastre come descritto in "Deterioramento del prodotto".
- Eseguire un esame visivo delle piastre rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
- Determinare il pH mediante potenziometria a temperatura ambiente per verificare che rientri nel range specificato di $5,5 \pm 0,2$.
- Verificare la compattezza del letto di agar durante la procedura di inoculo.
- Incubare a $33 - 37$ °C e $20 - 25$ °C per 72 h delle piastre rappresentative non inoculate ed esaminarle per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

Dermatophyte Test Medium (DTM) (terreno per test di dermatofiti) è un terreno selettivo e differenziale per la rilevazione e identificazione presuntiva di dermatofiti da campioni clinici. Per la mancata disponibilità di uno degli agenti inibitori, la clortetraciclina, si raccomanda l'uso di Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol (terreno per test di dermatofiti modificato con cloramfenicolo) in sostituzione della formula DMT originale.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

I dermatofiti causano infezioni fungine cutanee dei capelli, della pelle e delle unghie, generalmente note con il nome di tigna o dermatofitosi.¹⁻³ Gli agenti eziologici più comuni di queste infezioni appartengono ai generi *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum*.

Taplin et al. hanno sviluppato il DTM come terreno di screening per l'isolamento selettivo e il rilevamento di dermatofiti da campioni clinici.⁴ Batteri, lieviti saprofiti e muffe venivano inibiti da una combinazione di tre antibiotici (cicloeximide, clortetraciclina e gentamicina). Verso la fine del 1992, la mancata disponibilità di clortetraciclina ne ha comportato la sostituzione con il cloramfenicolo.

I dermatofiti vengono identificati presuntivamente in base alla morfologia macroscopica e alla produzione di metaboliti alcalini che elevano il pH e inducono l'indicatore rosso fenolo a determinare il viraggio del terreno da giallo a rosa e a rosso.²⁻⁴ Secondo Taplin et al., l'affidabilità del terreno (con clortetraciclina) ai fini dell'identificazione di dermatofiti è del 97 – 100%.⁴

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il digerito papainico di farina di soia fornisce aminoacidi e altre sostanze azotate necessarie per favorire la crescita fungina. Il destrosio è una fonte di energia. Il rosso fenolo è un indicatore colorimetrico che viene incluso per visualizzare l'aumento del pH nel terreno.

Gli antibiotici favoriscono il recupero di dermatofiti mediante inibizione di batteri e funghi saprofiti. La cicloeximide è un antimicotico attivo contro lieviti saprofiti e muffe, ma non attivo contro i dermatofiti. Il cloramfenicolo è un antibiotico ad ampio spettro che inibisce una vasta gamma di batteri gram-positivi e gram-negativi. La gentamicina è un antibiotico aminoglicosidico che inibisce batteri gram-negativi e alcuni gram-positivi, inclusi gli stafilococchi.

VII REAGENTI

Dermatophyte Test Medium, Modified with Chloramphenicol

Formula approssimata* per litro di acqua purificata

Digerito papainico di farina di soia	10,0 g	Cicloeximide.....	0,5 g
Destrosio	10,0 g	Gentamicina.....	0,1 g
Agar.....	24,0 g	Cloramfenicolo.....	0,1 g
Rosso fenolo.....	0,2 g		

*Formulazione aggiustata e/o supplementata per soddisfare i criteri prestazionali.

Avvertenze e precauzioni: Per uso diagnostico *in vitro*.

Aprire con cautela le provette e i flaconi con i tappi serrati allo scopo di evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e dell'immunodeficienza umana.

Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".⁵⁻⁸ Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave le piastre pronte per l'uso, i flaconi, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Modalità di conservazione: Al ricevimento, conservare le provette al buio a 2 – 8 °C. Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. I terreni in provetta conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno sia a temperatura ambiente.

Deterioramento del prodotto: Non usare il terreno se presenta evidenze di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento o altri segni di deterioramento.

VIII RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Consultare i testi appropriati per dettagli sulle procedure di raccolta e trattamento dei campioni.^{1-3,9}

IX PROCEDURA

Materiale fornito: Dermatophyte Test Medium (DTM), Modified with Chloramphenicol

Materiali necessari ma non forniti: Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Procedura del test: Adottare tecniche asettiche.

Inoculare il terreno non appena i campioni pervengono in laboratorio. Dispensare il campione al centro della superficie agar e premerlo leggermente nell'agar per assicurarsi che sia strettamente a contatto con il terreno.

Chiudere senza avvitare completamente il tappo in modo da lasciar circolare l'aria e incubare a 22 – 25 °C per un massimo di 14 giorni.

Controllo di qualità a cura dell'utente Vedere "Procedure di controllo di qualità".

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Consultare le linee guida CLSI e le norme CLIA in materia, per una corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità.

X RISULTATI

Entro 10 – 14 giorni di incubazione, i dermatofiti assumono una morfologia tipica e un colore da rosa a rosso nel terreno attorno alla colonia. Ignorare i cambiamenti di colore dopo il quattordicesimo giorno di incubazione, in quanto possono essere causati da funghi contaminanti.⁴

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Raramente è sufficiente un solo terreno per rilevare tutti i microrganismi potenzialmente significativi in un campione. Gli agenti di terreni selettivi possono inibire alcuni ceppi delle specie desiderate o consentire la crescita di una specie che erano destinati a inibire, soprattutto se la specie è presente in elevata concentrazione nel campione. Per ottenere maggiori informazioni e garantire il recupero ottimale di potenziali patogeni, i campioni coltivati su terreni selettivi devono pertanto essere coltivati anche su terreni non selettivi.

Ai fini dell'identificazione, i microrganismi devono essere in coltura pura. Per l'identificazione finale, è necessario eseguire test morfologici, biochimici e/o sierologici. Per informazioni, consultare la documentazione appropriata.^{1-3,9-11}

XII CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Prima della spedizione, vengono testate le prestazioni di tutti i lotti di Dermatophyte Test Medium (DTM) Modified with Chloramphenicol. Campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati direttamente con colture fresche di *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Microsporum audouinii* ATCC 9079 e *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, cresciute su piastre di BBL Sabouraud Dextrose Agar. I contenitori vengono incubati per un massimo di sette giorni a 20 – 27 °C in aerobiosi. Con *T. mentagrophytes* e *M. audouinii*, si osserva nel terreno una crescita moderata – intensa e lo sviluppo di un colore rosa-rosso. *A. brasiliensis* è da parzialmente a completamente inibito.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
299701	BD BBL Dermatophyte Test Medium, Modified with Chloramphenicol Slants, conf. da 10 provette di misura C

XIV BIBLIOGRAFIA

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. Tenover (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.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito 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