



6 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Anse e tamponi sterili da microbiologia, termostato e strumentazione di laboratorio, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

7 - CAMPIONI

Le piastre a 2 settori con Dermatophyte Test Medium / Sabouraud Dextrose Agar + CAF sono destinate all'esame batteriologico di campioni clinici ove si sospetti la presenza di dermatofiti (unghie, pelle, capelli). Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, la conservazione ed il trasporto in Laboratorio dei campioni.² Quando possibile, raccogliere il campione prima dell'inizio della terapia antimicrobica.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente. Il materiale prelevato da lesioni della pelle, dai capelli e dalle unghie, deve essere seminato sulla superficie dei due terreni assicurandone una buona aderenza.

Incubare in aerobiosi a 23-27°C per 4 - 7 giorni.

I risultati delle colture negative possono essere riportati dopo 7 giorni, ma le piastre devono essere incubate nuovamente per un'altra settimana ed esaminate prima di scartarle dopo due settimane.²

9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie isolate.

I dermatofiti producono metaboliti alcalini che aumentano il pH del terreno Dermatophyte Test Medium, inducendo un viraggio di colore del rosso fenolo dall'arancione al rosso. Esaminare il terreno per la presenza di dermatofiti caratterizzati da una crescita con ife bianche o rosa chiaro e di un colore da rosa a rosso del terreno. Per i dermatofiti a crescita rapida, il colore rosso appare dopo 48 ore di incubazione; per i dermatofiti a crescita lenta sono richiesti da 3 a 7 giorni di incubazione. Quando vi sono piccole colonie, il colore rosso rimane limitato all'area intorno alla colonia; quando la crescita è confluyente e cospicua, l'indicatore cambia di colore sull'intera piastra.

Su Sabouraud Dextrose Agar + CAF i medesimi microrganismi coltivano con le caratteristiche cromatiche tipiche del fungo filamentoso isolato.

10 - CONTROLLO QUALITA' DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

| CEPPI DI CONTROLLO | INCUBAZIONE T° / T / ATM | RISULTATI ATTESI |
|------------------------------------|--------------------------|--|
| DERMATOPHYTE TEST MEDIUM | | |
| <i>T. mentagrophytes</i> ATCC 9533 | 23-27°C / 94-96h / A | Ife bianche, terreno rosso-viola |
| <i>C. albicans</i> ATCC 10231 | 23-27°C / 94-96h / A | Crescita parzialmente inibita |
| <i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404 | 23-27°C / 94-96h / A | Crescita inibita |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | 23-27°C / 94-96h / A | Crescita inibita |
| SABOURAUD DEXTROSE AGAR + CAF | | |
| <i>T. mentagrophytes</i> ATCC 9533 | 23-27°C / 94-96h / A | buona crescita, colonie bianche con morfologia tipica |
| <i>C. albicans</i> ATCC 10231 | 23-27°C / 94-96h / A | buona crescita, colonie bianche lievitiiformi |
| <i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404 | 23-27°C / 94-96h / A | buona crescita, colonie con ife nere e morfologia tipica |
| <i>E. coli</i> ATCC 27922 | 23-27°C / 94-96h / A | inibito |

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di piastre pronte all'uso a due settori e delle materie prime impiegate per la produzione (terreni in polvere Dermatophyte Selective Medium-DTM, REF 4013691 preparato con l'aggiunta di Dermatophyte Antimicrobial Supplement, REF 4240024 e Sabouraud Dextrose Agar w/CAF 50 mg, REF 402006) vengono testati per la produttività e la selettività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

DERMATOPHYTE TEST MEDIUM

La produttività del terreno è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo con i ceppi target *Microsporum canis* ATCC 36229, *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533. Dopo l'incubazione a 23-27°C per 96 ore, le colonie tipiche sviluppano ife aeree bianche con alcalinizzazione del terreno che vira al rosso.

Per valutare la selettività del terreno vengono seminate con metodo Miles Misra modificate appropriate diluizioni di una sospensione con densità pari a McFarland 0,5 dei seguenti ceppi non target *C. albicans* ATCC 10231, *A. brasiliensis* ATCC 16404, *S. cerevisiae* ATCC 9763, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923. Dopo incubazione, *C. albicans* risulta parzialmente inibita mentre gli altri ceppi non target sono completamente inibiti.

SABOURAUD DEXTROSE AGAR + CAF

La produttività è saggiata con metodo quantitativo con i seguenti ceppi target: *C. albicans* ATCC 10231, *A. brasiliensis* ATCC 16404, *S. cerevisiae* ATCC 9763. Le piastre di SDA-CAF sono seminate con appropriate diluizioni in soluzione salina di sospensioni di colonie dei ceppi target. Dopo incubazione a 20-25°C per 3-5 giorni in aerobiosi vengono contate le colonie sviluppate sul lotto in esame e sul lotto di riferimento e calcolato l'indice di produttività ($Pr = \frac{UFC_{TB}}{UFC_{RB}}$). Nel caso Pr sia maggiore o uguale a 0,7 e nel caso la morfologia delle colonie sia tipica i risultati sono giudicati conformi.

Inoltre la produttività del terreno è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo con i seguenti ceppi target: *P. chrysogenum* ATCC 10106, *T. mentagrophytes* ATCC 9533. Dopo incubazione a 20-25 °C fino a 5 giorni, viene valutata e registrata l'entità delle crescite e le caratteristiche delle colonie: esse devono essere comparabili in entrambi i lotti.

Per valutare la selettività del terreno vengono seminate con metodo Miles Misra modificate diluizioni da 10⁻¹ a 10⁻⁴ di sospensioni con densità pari a McFarland 0,5 dei ceppi non target *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* ATCC 10005 e *S. aureus* ATCC 25923. La crescita di *E. coli* e *S. aureus* è totalmente inibita, la crescita di *P. mirabilis* risulta parzialmente inibita.





12 - LIMITI DEL METODO

- I funghi saprofiti normalmente non coltivano su Dermatophyte Test Medium tranne quando il campione ne sia pesantemente contaminato; in questo caso si hanno crescite più tardive, caratteristiche per il colore delle colonie (nere per *Aspergillus niger* e *Cladosporium*, verde per *Penicillium* spp.) a volte con viraggio al rosso del terreno: *Candida albicans* coltiva senza viraggio del colore del terreno.⁶
- Ignorare qualsiasi variazione di colore del terreno DTM dopo 10 giorni di incubazione poiché esso può essere dovuto alla crescita di contaminanti.⁶
- Non deve essere usato un terreno contenente cicloesimide quando si sospetti un'infezione da funghi non dermatofiti.²
- L'uso del DTM dovrebbe essere combinato con lo studio morfologico, poiché i dermatofitoidi, solitamente non patogeni, come il complesso *Trichophyton terrestre*, nonché varie specie di *Chrysosporium* e altri funghi non dermatofiti possono crescere e far virare al rosso il terreno.⁹
- DTM può raramente dare risultati falsi negativi con alcuni ceppi di *Microsporum*.⁹
- Il cloramfenicolo può risultare inibitorio per i funghi patogeni.⁸
- Sabouraud Dextrose Agar + CAF ha una scarsa efficacia nell'isolamento di *Histoplasma capsulatum* da campioni clinici potenzialmente contaminati.¹⁰
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche, morfologiche ed emolitiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- I terreni di coltura qui descritti sono da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il prodotto qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- I terreni di coltura qui descritti contengono materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni d'uso specifiche per i prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare le piastre dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo in accordo alla legislazione vigente in materia.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ



Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, rotture dell'agar, colore alterato).

15 - BIBLIOGRAFIA

1. Taplin D, Zaias N, Rebell G, Blank H. Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM) Arch Derm 1969; 99:203-209.
2. Public Health England. Investigation of dermatological specimens for superficial mycoses. SMI B 39, Issue no: 3.1, 2016.
3. Allen AM, Drewry RA, Weaver RE. Evaluation of Two New Color Indicator Media for Diagnosis of Dermatophytosis. Arch Dermatol. 1970;102(1):68-70
4. Elewski BE, Leyden J, Rinaldi MG, Atillasoy E. Office practice-based confirmation of onychomycosis: a US nationwide prospective survey. Arch Intern Med. 2002;162(18):2133-2138.
5. Jennings MB, Rinaldi MG. Confirmation of dermatophytes in nail specimens using in-office dermatophyte test medium cultures. Insights from a multispecialty survey. J Am Podiatr Med Assoc. 2003;93(3):195-202.
6. Rahman MA, Chowdhury OA, Debnath MR, et al. Comparison among Different Culture Media for the Detection of Dermatophytes. Mymensingh Med J. 2018;27(3):626-630.
7. Rich P, Harkless LB, Atillasoy ES. Dermatophyte test medium culture for evaluating toenail infections in patients with diabetes. Diabetes Care. 2003;26(5):1480-1484.
8. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
9. Borman AM, Summerbell RC. Trychophyton, Microsporum, Epidermophyton and agents of superficial mycoses. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
10. Unis G, da Silva VB, Severo LC. Disseminated histoplasmosis and AIDS. The role of culture medium for the bronchoscopic clinical specimens Rev Soc Bras Med Trop. 2004;37:234-7.



**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

| | | | | |
|---|---|--|---|---|
|  REF Numero di catalogo |  LOT Numero di lotto |  IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i> |  Fabbricante |  Utilizzare entro |
|  Limiti di temperatura |  Contenuto sufficiente per <n> saggi |  Consultare le Istruzioni per l'Uso |  Non riutilizzare |  Fragile maneggiare con cura |

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

| Versione | Descrizione delle modifiche | Data |
|--|---|---------|
| Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 3 | Aggiornamento del layout e del contenuto in accordo a IVDR 2017/746 | 09/2021 |
| Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 4 | Eliminazione Classificazioni obsolete | 03/2023 |

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

