

**ISTRUZIONI PER L'USO****DERMATOPHYTE SELECTIVE MEDIUM (DTM)****Piastre pronte all'uso***Trichophyton mentagrophytes* su DTM**1 - DESTINAZIONE D'USO**

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno selettivo e differenziale per l'isolamento dei dermatofiti dagli annessi cutanei quali pelle, unghie, capelli.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA *

Peptone di soia	11,0 g
Glucosio	10,0 g
Rosso fenolo	0,2 g
Cicloeximide	0,5 g
Agar	15,0 g
Gentamicina solfato	0,1 g
Clortetraciclina HCl	0,1 g
Acqua purificata	1000 mL

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

I funghi dermatofiti sono classificati in tre generi: *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp. e *Trichophyton* spp. Le infezioni da dermatofiti più comuni sono la *tinea pedis* (piede dell'atleta), la *tinea unguium* (infezione delle unghie) negli adulti e la *tinea capitis* (tigna del cuoio capelluto) nei bambini.¹

Dermatophyte Test Medium o DTM è un terreno sviluppato da Taplin, Zaias e Rebell² nel 1969. Le piastre pronte all'uso sono preparate secondo la formula di Taplin *et al.* e sono destinate all'isolamento selettivo ed alla differenziazione dei funghi dermatofiti responsabili di lesioni della pelle, delle unghie, dei capelli.¹

Il peptone di soia fornisce i nutrienti per la crescita microbica. Il glucosio è una fonte di carbonio e di energia per stimolare la crescita dei dermatofiti. Il rosso fenolo è un indicatore di pH, utilizzato per rilevare la produzione di acidità/alcalinità e per differenziare i dermatofiti che coltivano con un viraggio al rosso del terreno, a causa della produzione di metaboliti alcalini. Gli antimicrobici inclusi nel terreno sopprimono parzialmente la crescita di batteri e funghi: la cicloeximide inibisce la maggior parte dei funghi saprofiti, la gentamicina inibisce gran parte dei batteri Gram-negativi ed alcuni Gram-positivi, la clortetraciclina ha un'attività batteriostatica verso una vasta gamma di microrganismi Gram-positivi e Gram-negativi. Il terreno consente di effettuare una diagnosi di dermatofiti dopo almeno 48 ore di incubazione.

Allen³ ha riportato un'accuratezza del 97% nell'identificazione dei dermatofiti con il terreno DTM e diversi autori⁴⁻⁷ hanno evidenziato come DTM sia un mezzo efficace e conveniente per confermare le infezioni da dermatofiti sia in laboratorio che a livello ambulatoriale.

4 - CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto del terreno in piastra	limpido di colore arancio
pH (20-25°C)	5,5 ± 0,2

5 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Dermatophyte Selective Medium (DTM) CND: W0104030201- EDMA: 14.03.02.01, RDM: 1444002/R	Piastre pronte all'uso	541369	2 x 10 piastre ø 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone

6 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Termostato ed altra strumentazione di laboratorio, anse e tamponi sterili da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori per l'identificazione delle colonie.

7 - CAMPIONI

Possono essere utilizzati 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.¹ 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 del terreno in piastra assicurando una buona aderenza al terreno.

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.¹

9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita microbica, registrare ciascuna specifica caratteristica cromatica e morfologica delle colonie. I dermatofiti producono metaboliti alcalini che aumentano il pH del terreno, 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.

10 - CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comune 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
<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

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 di Dermatophyte Selective Medium (DTM) e delle materie prime impiegate per la produzione, terreno in polvere Dermatophyte Selective Medium-DTM- (Taplin), preparato con l'aggiunta di Dermatophyte Antimicrobial Supplement) vengono testati per la produttività e la selettività avendo come riferimento lotti precedentemente approvati e considerati come Lotti di Riferimento.

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 modificato 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.

12 - LIMITI DEL METODO

- I funghi saprofiti normalmente non coltivano su Dermatophyte Selective 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 brasiliensis* e *Cladosporium*, verde per *Penicillium* spp.) a volte con viraggio al rosso del terreno.
- Ignorare qualsiasi variazione di colore dopo 10 giorni di incubazione poiché esso può essere dovuto alla crescita di contaminanti.⁸
- Non deve essere usato un terreno contenente cicloesimide quando si sospetti un'infezione da funghi non dermatofiti.¹
- 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
- Il DTM può raramente dare risultati falsi negativi con alcuni ceppi di *Microsporum*.⁹
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, 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.
- Il terreno di coltura qui descritto è 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 terreno in piastra 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.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene 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 materiali 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.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- 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 tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzate, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- 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. Public Health England. Investigation of dermatological specimens for superficial mycoses. SMI B 39, Issue no: 3.1, 2016.
2. Taplin D, Zaias N, Rebell G, Blank H. Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM) Arch Derm 1969; 99:203-209.
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.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	o REF	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 4	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	09/2020

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

