

Einführung

Verwendungszweck

InTray® DM ist ein angereichertes Dermatophytenmedium für den Nachweis von Dermatophyten in klinischen Proben mit gemischten Mikrobiota.

Beschreibung und Prinzip

Dermatophyten sind Pilze der Gattungen *Microsporum*, *Trichophyton* und *Epidermophyton*. Sie können das in der Haut, den Haaren und den Nägeln des lebenden Wirts vorkommende Keratin verstoffwechseln. Die Pilze besiedeln typischerweise das kutane Gewebe des lebenden Wirts, dringen jedoch selten bis ins Unterhautzellgewebe vor. Zur Beschreibung der Dermatophyten werden auch die Begriffe Tinea und Dermatophytose verwendet.

InTray DM ist so formuliert, dass beim Wachstum von Dermatophyten ein roter Farbstoff entsteht. Zudem fördert die Formulierung des Mediums ein charakteristisches Koloniewachstum mit typischen Merkmalen, die sich sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch identifizieren lassen. Das Medium hemmt die meisten grampositiven und gramnegativen Bakterien, Hefen und saprophytischen Pilze. Es ist ein Kultursystem für die einmalige Exposition mit dynamischen integrierten Komponenten und Funktionen, die auf Benutzerkompatibilität und einen einfachen Nachweis ausgelegt sind.

Reagenzien und Aussehen

Dieses Produkt enthält Soja-Pepton (Soytone), Kohlenhydrate, Wachstumsförderer, antimikrobielle Wirkstoffe wie Cycloheximid, Farbindikator und Agar mit einem endgültigen pH-Wert von $5,6 \pm 0,1$ bei 25°C .

Vorsichtsmaßnahmen, Sicherheit und Entsorgung

Zur *In-vitro*-Diagnostik

Lesen Sie die Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS), und befolgen Sie die Handhabungshinweise. Tragen Sie eine geeignete Schutzbrille sowie geeignete Schutzkleidung und -handschuhe.

Nachdem die Schale inokuliert und wieder versiegelt wurde, darf sie nur in einem Biosicherheitsschrank erneut geöffnet werden. Da infektiöses Material vorhanden sein kann, muss die Schale durch 20-minütiges Autoklavieren bei 121°C zerstört werden.

Lagerung

Lagern Sie InTray DM nach dem Erhalt bei $18-25^\circ\text{C}$. Das Produkt darf nicht im Kühl- oder Gefrierschrank aufbewahrt oder über längere Zeit bei Temperaturen von über 40°C gelagert werden. Verwenden Sie InTray DM nicht, wenn das Medium Anzeichen von Produktzerfall oder Kontamination aufweist.

Haltbarkeit

Die Haltbarkeit von InTray DM beträgt 27 Monate ab Herstellungsdatum.

Verfahren

Wichtige Hinweise zur Probenentnahme: Die Probenentnahme ist einer der größten Unsicherheitsfaktoren bei der Verwendung dieses Produkts.

NÄGEL – Oft ist es schwierig, lebensfähiges Material von infizierten Nägeln zu entnehmen, da sich die lebenden Organismen tief unter dem Nagel befinden. Zerschneiden Sie Nagelproben für ein optimales Ergebnis in kleine Stücke.

HAARE – Greifen Sie die Probe am nicht infizierten Ende und zerschneiden Sie den infizierten Teil in mehrere (3–6) kleinere Stücke von jeweils etwa 2 cm Länge, um das Medium zu inokulieren.

HAUT – Entnehmen Sie Hautproben mit einem mit dem Medium benetzten Inokulationswerkzeug oder einer scharfen Klinge. Schaben Sie die Haut vom äußeren Rand einer aktiven Läsion ab. Samenflüssigkeit kann für Dermatophytenkulturen nicht verwendet werden. Bei Bläschenbildung sollten die Schabeproben der Haut von der Oberfläche entnommen werden.

Probenvorbereitung:

Wenden Sie bei der Entnahme und Handhabung der Proben eine aseptische Technik an. Entfernen Sie alle Seifenrückstände vom Probenentnahmebereich. Reinigen Sie den Bereich mit 70%igem Alkohol, und lassen sie ihn an der Luft trocknen.

Probenentnahme:

InTray DM wurde für mit Haar-, Haut- und Nagelproben (abgeschnittenes oder abgeschabtes Material) angesetzte Kulturen entwickelt. Alle Proben müssen gemäß den Empfehlungen der US-amerikanischen CDC-NIH für potenziell infektiöses menschliches Serum, Blut oder andere Körperflüssigkeiten und -materialien gehandhabt werden.

Mitgeliefertes Material

- InTray DM

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

- Steriles Inokulationswerkzeug (Wattestäbchen/Pinzette)
- Laborinkubator für Inkubation bei $18-25^\circ\text{C}$ in Dunkelheit

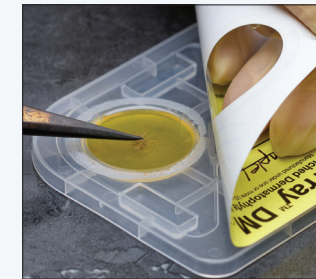
1 InTray vorbereiten



Ziehen Sie per Hand die untere rechte Ecke zurück, um das Schutzsiegel vollständig freizulegen. Entfernen Sie das Siegel, indem Sie an der Lasche ziehen, und entsorgen Sie dieses.

DER WEISSE FILTERSTREIFEN ÜBER DER ENTLÜFTUNGSÖFFNUNG DARF WEDER ENTFERNT NOCH AUSGETAUSCHT WERDEN!

2 Probe inokulieren



Inokulieren Sie die Probe (Haar, Nagel oder Hautabschabungen) auf der Oberfläche des Mediums.

Achten Sie darauf, dass kein Haar über die Probenvertiefung herausragt, da dies eine ordnungsgemäße Versiegelung verhindern und das Agar dehydrieren könnte.

Versiegeln Sie das InTray erneut, indem Sie die Kanten des Etiketts rund um die Kunststoffschale festdrücken. Beschriften Sie das Etikett mit den Patienteninformationen gemäß den Anforderungen Ihres Labors.

Inkubation

Inkubieren Sie die inokulierten Schalen bis zu 14 Tage lang bei $18-25^\circ\text{C}$ in Dunkelheit. Führen Sie täglich eine Prüfung auf Farbänderung durch die Sichtfenster der Schalen durch.

Qualitätskontrolle

Dieses Produkt wurde getestet und erfüllt die CLSI-Norm (vormals NCCLS) für kommerziell hergestellte Medien (M22-A3). Bei der Herstellung werden Qualitätskontrollen für jede InTray DM Charge durchgeführt. Die Fähigkeit des Mediums, das Wachstum zu unterstützen und die erwarteten biochemischen Reaktionen und die erwartete Morphologie nachzuweisen, wird chargenweise verifiziert.

Empfohlene Stämme für InTray DM Qualitätskontrollen

Teststamm	ATCC®	Erwartetes Ergebnis
<i>T. mentagrophytes</i>	9533	Wachstum
<i>T. rubrum</i>	28188	Wachstum
<i>M. gypseum</i>	14683	Wachstum
<i>A. brasiliensis</i>	16404	Signifikante Hemmung
<i>S. aureus</i>	25923	Signifikante Hemmung
<i>E. coli</i>	25922	Signifikante Hemmung
<i>C. albicans</i>	60193	Signifikante Hemmung

Interpretation der Ergebnisse

Bewertung

Führen Sie täglich eine Prüfung auf Farbänderung durch das Sichtfenster der Schale durch, ohne die InTray DM Schale zu öffnen. Legen Sie die ungeöffnete Schale dazu unter ein Mikroskop, und überprüfen Sie sie bei 100-facher und 200-facher Vergrößerung auf Organismen. Einfärben ist nicht erforderlich. **Siehe Identifizierungstabelle unten.**

Gemischtes Wachstum: Auf einer Schale können sowohl Dermatophyten als auch Saprophyten (Kontaminanten) wachsen. Zuerst beginnt das Wachstum der Dermatophyten, wobei sich das Medium um die Kolonie herum rot färbt. Wenn die Saprophyten zu wachsen beginnen, erfolgt zunächst keine Farbänderung. Dann ändert sich die Koloniefarbe von Weiß zu Gelb, Schwarz, Braun oder Grün.

Positivergebnis: Wenn sich die Farbe des Mediums innerhalb von 1–14 Tagen an der Stelle der Probe zu Rot ändert und weißliche Kolonien heranwachsen, ist das Testergebnis von InTray DM präsumtiv positiv.

Negativergebnis: Wenn die Schale 14 Tage nach der Inokulation keine Anzeichen von Koloniewachstum oder Farbänderung aufweist, ist das Ergebnis präsumtiv negativ.

Identifizierung von Dermatophyten

Wenn diese oder andere häufig vorkommende Dermatophyten vorhanden sind, ändert sich die Farbe des Dermatophytenmediums 2–14 Tage nach der Inokulation zu Rot. Wenn diese oder andere häufig vorkommende Dermatophyten vorhanden sind, ändert sich die Farbe des Dermatophytenmediums 2–14 Tage nach der Inokulation zu Rot.

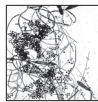
Im Folgenden sehen Sie eine Auswahl an häufig vorkommenden Organismen. Weitere Informationen finden Sie auf der DM-Wandtafel (Kat.-Nr. 100-000-005; auch online verfügbar unter biomeddiagnostics.com). Auf der Tafel sind die Merkmale ausführlicher dargestellt. Außerdem enthält sie die unten aufgeführten Literaturhinweise sowie Verweise auf andere mykologische und mikrobiologische Standardwerke.



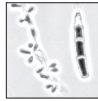
Microsporum canis Septierte Hyphen. Makrokonidien: (10–25 x 35–110 µm) zahlreich, lang, spindelförmig, rau und dickwandig; sind an den knubbelartigen Enden sichtbar. Mikrokonidien: zahlenmäßig geringer, glatt und keulenförmig.



Microsporum gypseum Septierte Hyphen. Makrokonidien: (8–16 x 22–60 µm) zahlreich, symmetrisch, rau und relativ dünnwandig mit abgerundeten Enden, nicht spitz wie *M. canis*. Mikrokonidien: zumeist vorhanden, keulenförmig.



Trichophyton mentagrophytes Septierte Hyphen. Makrokonidien: (4–8 x 20–50 µm) gelegentlich vorhanden, zigarrenförmig, dünnwandig, schmale Aufsätze auf septierten Hyphen, 1–6 Zellen, in jungen Kulturen (5–10 Tage alt) vorkommend. Mikrokonidien: Hyphen, 1–6 Zellen, in jungen Kulturen (5–10 Tage alt) vorkommend. Mikrokonidien: Kommen in der Regel in pulvrigen Kulturen vor – sind sehr rund und sammeln sich auf verzweigten Konidiophoren an; seltener in flockigen Kulturen, wo sie kleiner und tropfenförmig sind und daher leicht mit denen von *T. rubrum* verwechselt werden.

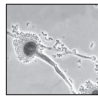


Trichophyton rubrum Septierte Hyphen. Makrokonidien: (4–6 x 15–30 µm), zahlreich, spärlich oder nicht vorhanden, können jedoch lange, schmale, dünnwandige, parallele Seiten aufweisen, 2–8 Zellen, können sich an den Enden einzeln oder in Gruppen bilden. Mikrokonidien: (2–3 x 3–5 µm) lateral, tropfenförmig, bilden sich auf Makrokonidien.

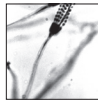
Identifizierung von Saprophyten (Kontaminanten)



Alternaria sp. Septierte, dunkle Hyphen. Septierte Konidiophoren, unterschiedlich lang und manchmal verzweigt. Makrokonidien sind groß (7–10 x 23–24 µm), braun, haben sowohl Quer- als auch Längsstationen und kommen einzeln oder in Ketten vor. Sind in der Regel am Ende des nächstgelegenen Konidiophors abgerundet, wodurch eine keulenförmige Form entsteht. Tag 10–14: Koloniewachstum ohne anfängliche Farbänderung. Koloniemorphologie – Bildung von grau-weißen, wolligen Kolonien 10–14 Tage nach der Inokulation, die später grünlich oder schwarz/braun mit einem hellen Rand werden. Schließlich kann es zu einer Überwucherung mit kurzen, grauen Luftfäden kommen. Die Rückseite ist schwarz. Die Farbe des Mediums wechselt zu Rosa, wenn sich die Farbe der Kolonie ändert.



Aspergillus sp. Mikroskopische Morphologie – Septierte Hyphen (2,5–8,0 µm Durchmesser); unverzweigter Konidiophor entspringt einer spezialisierten Fußzelle. Das Konidiophor ist in der Regel an der Spitze verbreitert und bildet ein aufgeblähtes Vesikel, das vollständig oder teilweise mit flaschenförmigen Phialiden bedeckt ist. Die Phialiden produzieren Ketten mit meist runden, manchmal rauen Konidien (2–5 µm Durchmesser). Tag 10–14: Koloniewachstum ohne anfängliche Farbänderung. Bildung von weißen, watten Kolonien 10–14 Tage nach der Inokulation, die später gelb, grün, schwarz oder braun werden. Die Rückseite ist weiß, goldfarben oder braun. Die Farbe des Mediums wechselt zu Rot, wenn sich die Farbe der Kolonie ändert.



Penicillium sp. Mikroskopische Morphologie – Septierte Hyphen (1,5–5 µm Durchmesser) mit verzweigten Konidiophoren, die Sekundärabzweigungen, sogenannte Metulae, aufweisen. Auf den Metulae befinden sich flaschenförmige Phialiden, die unverzweigte Ketten mit glatten oder rauen Konidien (2,5–5 µm Durchmesser) tragen. Die gesamte Struktur hat die charakteristische Pinselform des „Penicillium“. Tag 10–14: Koloniewachstum ohne anfängliche Farbänderung. Koloniemorphologie – Die Oberfläche ist zunächst weiß, wird dann sehr pulvrig und nimmt einen bläulich-grünen Farbton an, der einen weißen Rand hat. Einige weniger häufig vorkommende Gattungen unterscheiden sich in ihrer Farbe. Die Rückseite ist normalerweise weiß, kann jedoch auch rot oder braun sein. Die Farbe des DM Mediums wechselt zu Rosa/Rot, wenn sich die Farbe der Kolonie ändert.

Beschränkungen

Wenn ein starker Verdacht auf eine Pilzinfektion besteht und das Testergebnis negativ ist, kann es angebracht sein, den Test zu wiederholen und eine sorgfältigere Probenentnahme durchzuführen.

Die Änderung der Medienfarbe und das Koloniewachstum variieren je nach dem körperlichen Zustand und der Anamnese des Patienten. Aus Proben von Patienten, die gegen Dermatophyten behandelt wurden (mit verschreibungspflichtigen Medikamenten, apothekenpflichtigen pflanzlichen Mitteln, Shampoos usw.), wachsen eventuell keine makroskopisch sichtbaren Kolonien heran. Die Farbe des Mediums kann sich jedoch dennoch verändern, und es kann zu mikroskopisch erkennbarem Wachstum mit Verformungen aufgrund von Hyphen und Sporen kommen.

Einige Seifen und topische Wirkstoffe können zu einer sofortigen Farbänderung führen. Wenn dies der Fall ist, entsorgen Sie den Test, waschen Sie den Entnahmebereich, und wiederholen Sie die Probenentnahme.

InTray DM ist ein Agarmedium, das insbesondere bei Lagerung bei niedrigen Temperaturen und/oder extremen Temperaturschwankungen anfällig für Kondenswasserbildung am inneren Siegel ist. Wenn Feuchtigkeit auf der Oberfläche des InTray sichtbar ist, trocknen Sie ihn kurz vor der Inokulation (mit entferntem Siegel und dem InTray Etikett in einer Position, in der ein Luftstrom möglich ist) in einem Bereich der Schutzstufe BSL-2. Wenn die Agaroberfläche inokuliert ist, dürfen keine Wassertropfen auf der Oberfläche des Agars sichtbar sein. Die Oberfläche des getrockneten Mediums muss glatt sein und darf keine Anzeichen von Austrocknung (Rippenmuster auf der Agaroberfläche) aufweisen.

Literaturnachweise

1. Kwon-Chung, K.J. and Bennett, J.E., Medical Mycology, Lea and Febiger: Philadelphia, 1992.
2. Murray, P.R., Baron, E.T., Pfaller, M.A., Tenoer, F.C., Tenover, R.H., Manual of Clinical Microbiology 6th ed., American Society for Microbiology: Washington, D.C. 1995, S. 709-722.
3. Larone, D.H., Medically Important Fungi: A Guide to Identification, 2nd ed., American Society for Microbiology: Washington, D.C., 1995.

Symbolglossar: biomeddiagnostics.com/1/symbol-glossary

Dokumentversionsverlauf der entsprechenden englischen Version 100-037

Rev. K, September 2019

Neues Format; neue Katalognummern hinzugefügt, Einschränkung bezüglich Kondenswasserbildung, Dokumentversionsverlauf, Verweis auf Online-Symbolglossar; Vorgabe von 18–25 °C statt Raumtemperatur; einige Organismen aus der Organismenidentifikationstabelle entfernt sowie Verweis auf DM-Wandtafel und Literaturhinweise hinzugefügt; einige Abschnitte und Überschriften umgeschrieben.



Hergestellt von:
Biomed Diagnostics, Inc.
1388 Antelope Road
White City, OR 97503 USA
biomeddiagnostics.com

BIOMED

InTray[®] DM

Angereichertes Dermatophytenmedium

REF

12-063-001

Σ 5

REF

12-063-002

Σ 20

Nicht in allen Ländern verfügbar; bitte erkundigen Sie sich.

Ein selektives Kultursystem zur Identifizierung von dermatophytischen Pilzen

Zur *In-vitro*-Diagnostik

CE

IVD

18 °C 25 °C

Analysenzertifikat



herunterladen