

COMBI - PLATE

Agar Sabouraud Dextrosa / Agar Selectivo para Dermatofitos (DTM)

REF 285-590

2



IVD Material para Diagnóstico *In Vitro*

Presentación:

Medio de cultivo listo para su uso, estuche de 10 unidades. Placas de dos sectores, 90 mm x 15 mm. (ref. 285-590).

Composición

Agar Sabouraud (gramos / litro):

Digesto pancreático de caseína:	5.00
Digesto péptico de tejidos animales:	5.00
Dextrosa:	40.00
Agar Bacteriológico	15.00

Aditivos (unidades / litro):

Cloramfenicol:	50.00 mg
Estreptomina:	40.000 UI
Penicilina G:	20.000 UI
pH final medio de cultivo listo para el uso:	5.6 +/- 0.2

Agar Selectivo para Dermatofitos (DTM) (gramos / litro):

Peptona de harina de soya:	10.00
D-(+) Glucosa:	10.00
Rojo de fenol:	0.20
Agar Bacteriológico:	17.00

Aditivos (unidades / litro):

Cicloheximida:	500 mg
Gentamicina sulfato:	100 mg
Tetraciclina clorhidrato:	100 mg
pH final medio de cultivo listo para el uso:	5.5 +/- 0.2

Uso previsto:

Aislamiento selectivo de hongos levaduriformes y miceliados sobre Agar Sabouraud; aislamiento selectivo de hongos dermatofitos sobre Agar DTM.

Descripción:

Medios de cultivo que permiten el aislamiento selectivo de hongos dermatofitos y levaduras. Su pH ligeramente ácido inhibe el desarrollo de muchas especies de bacterias y favorece el de los hongos. La adición de antibióticos los hacen aún más selectivos al inhibir el desarrollo de la microbiota acompañante. La cicloheximida actúa como agente inhibidor del desarrollo de los hongos contaminantes.

En el Agar Sabouraud, las peptonas de caseína y de tejidos animales aportan una gran variedad de fuentes de nitrógeno, como péptidos y aminoácidos esenciales para el desarrollo de los hongos miceliados y levaduriformes.

En el Agar Selectivo para Dermatofitos – DTM - (Dermatophyte Test Medium según Taplin y cols.), la peptona de harina de soya estimula el crecimiento rápido de los dermatofitos, a la vez que facilita la acumulación de metabolitos alcalinos, lo que se observará como un cambio en el pH del medio, con viraje del anaranjado al rojo.

La glucosa o dextrosa aporta la fuente de energía para el metabolismo de los hongos. El agar actúa como agente gelificante

De acuerdo a esto, ambas fórmulas son recomendadas para el aislamiento de levaduras y hongos dermatofitos a partir de muestras clínicas en medicina humana y veterinaria.

Materiales y Reactivos necesarios, pero no suministrados:

Estufa de cultivo.
Asa de siembra.

PRECAUCIONES PARA SU USO ADECUADO:

- Material para uso diagnóstico IN VITRO.
- Material listo para ser usado. No requiere interfaz u otro producto sanitario para ser utilizado.
- No realizar intervenciones en el producto. La utilización según el uso previsto siguiendo las instrucciones que se indican mantiene las garantías.
- Uso sólo por parte de personal calificado. IVD diseñado para ser usado en laboratorios de microbiología clínica.
- No debe ser usado como materia prima para ninguna otra fabricación.
- No debe usarse pasado su fecha de expiración.
- No debe usarse si el empaque o el producto esta deteriorado. Material garantizado solo con sus sellos intactos.
- No debe usarse si se observa contaminación bacteriana.
- No debe usarse si presenta signos de deshidratación, congelación o agrietamiento
- Ambientar la placa sin sello antes de su uso. No re sellar.
- El material utilizado debe descartarse de manera segura de acuerdo a las normativas de bioseguridad vigentes en el país

Conservación:

Conservado refrigerado entre 2° y 8° C es estable hasta la fecha de caducidad. El medio de cultivo se debe almacenar sellado y con la cubierta de la placa (tapa) abajo, protegido de la luz.

Muestras a cultivar:

Muestras de origen clínico (piel, pelo, secreciones) o ambientales que puedan contener levaduras y hongos dermatofitos, tales como *Candida*, *Trichophyton* y *Microsporum* y otros.

Inoculación:

Antes de realizar la siembra, permitir que el medio de cultivo alcance la temperatura ambiente.

La siembra de muestras debe realizarse en condiciones asépticas, bajo campana de bioseguridad y con mechero.

Sembrar solo una muestra por placa.

Sembrar mediante estría o diseminar las muestras en superficie.

Realizar varias picaduras empujando las muestras contra el agar.

Incubación:

Incubar aproximadamente 3 a 5 días para el cultivo de levaduras, y hasta 30 o más días, entre 25°C y 30°C para el cultivo de dermatofitos, en atmósfera aeróbica.

Recomendamos cultivar en cámara húmeda para evitar la desecación.

Lectura e Interpretación de Resultados:

Aproximadamente desde el quinto día se puede observar el desarrollo de las colonias fúngicas y sus características. El mayor tiempo de incubación en condiciones ideales favorece la maduración del desarrollo de hongos miceliados y facilita la observación de la morfología.

La identificación orientativa de las especies de levaduras patógenas se puede facilitar mediante un cultivo secundario en Agar Cromo – Candida (ref.285-133). Además, el usuario puede realizar la identificación de especies aplicando otras metodologías.

Sobre el Agar Selectivo para dermatofitos (DTM), las colonias de hongos patógenos se hacen visibles al cabo de unos cinco días de incubación, produciendo un viraje del indicador de pH hacia el rojo.

La identificación de las especies de hongos dermatofitos se establece según la morfología macroscópica de la colonia, además de la observación microscópica de los elementos morfológicos característicos de cada especie (micelio reproductivo). El usuario deberá contar con la capacitación adecuada para la evaluación morfológica con fines diagnósticos.

Precaución:

Muchas especies de hongos patógenos producen esporas que pueden diseminarse en el ambiente del laboratorio. El cultivo de estos microorganismos debe estudiarse bajo condiciones de bioseguridad.

Control de Calidad:

El control de calidad de la performance se ajusta a los criterios de diseño y desarrollo del producto, y su resultado se declara en el Certificado de Análisis emitido para cada lote.

No obstante, el usuario puede someter este medio de cultivo a sus propios controles de calidad según su propio criterio, lo que podría quedar fuera de la garantía certificada. A modo de referencia, puede realizarse el siguiente ensayo de control de calidad:

Resultados esperados para el cultivo sobre Agar Sabouraud *

Cepa de Control	Resultado esperado
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	Buen desarrollo
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	Buen desarrollo
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	Buen desarrollo
<i>Candida krusei</i> ATCC 6528	Buen desarrollo
<i>Microsporium canis</i> ATCC 36299	Buen desarrollo
<i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188	Buen desarrollo
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533	Buen desarrollo
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibido
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Inhibido
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibido

* Los resultados esperados sobre Agar Selectivo para Dermatofitos (DTM) son similares, excepto para *Candida krusei* ATCC 6528 (inhibida) y *Candida tropicalis* ATCC 750 (desarrollo leve o moderado).

Limitaciones de Uso:

El Agar selectivo para Dermatofitos (DTM) es un medio de cultivo concebido para el aislamiento solo de hongos dermatofitos, por lo que no presentarán desarrollo la mayoría de las especies de hongos oportunistas o ambientales. Los hongos miceliados que puedan tolerar la dosis de cicloheximida pueden presentar desarrollo parcialmente inhibido y presentar alteraciones morfológicas.

Algunas especies de hongos patógenos oportunistas son sensibles a la cicloheximida, especialmente los relacionados con micosis profundas. En este caso el desarrollo podría resultar

inhibido, por lo que para el estudio de estos agentes se recomienda el uso de Agar Sabouraud exento de inhibidores.

El desarrollo de bacterias puede verse total o parcialmente inhibido debido al pH ácido del medio de cultivo y a su contenido de antibióticos. Debe tenerse en cuenta que podrían crecer bacterias resistentes a los antibióticos proporcionados por la fórmula.

Certificados de Análisis:

Certificados de Análisis para cada lote pueden ser consultados por el cliente en el sitio web www.valtekdiagnostics.com

Eliminación de Desechos:

El usuario es responsable de la adecuada eliminación de los materiales para diagnóstico microbiológico, estén utilizados o no, para lo que deberá estar en conocimiento cabal de la normativa local vigente respecto de la disposición de material infeccioso o potencialmente infeccioso. Cada laboratorio asume la responsabilidad de la gestión de sus desechos y efluentes, sea por cuenta propia o mediante terceros que garanticen el adecuado tratamiento de estos, y según lo determinen las reglamentaciones locales vigentes.

Referencias:

1. Carlier Gwendoline I. M. (1948) *Brit. J. Derm. Syph.* 60. 61-63.
2. Hodges R. S. (1928) *Arch. Derm. Syph.*, New York, 18. 852.
3. Sabouraud R. (1910) *Les Teignes*, Masson, Paris.
4. Georg Lucille K., Ajello L. and Papageorge Calomira (1954) *J. Lab. Clin. Med.* 44. 422-428.
5. Ajello Libero (1957) *J. Chron. Dis.* 5. 545-551.
6. Williams Smith H. and Jones J. E. T. (1963) *J. Path. Bact.* 86. 387-412.
7. Hantschke D. (1968) *Mykosen.* 11. 113-115.
8. Dolan C. T. (1971) *Appl. Microbiol.* 21. 195-197.
9. Pagano J., Levin J. G. and Trejo W. (1957-58) *Antibiotics Annual* 1957-58, 137-143.
10. Kutscher A. H., Seguin L., Zegarelli E. V., Rankow R. M., Mercadante J. and Piro J. D. (1959a) *J. Invest. Derm.* 33. 41-47.
11. Kutscher A. H., Seguin L., Zegarelli E. V., Rankow R. M., Campbell J. B. and Mercadante J. (1959b) *Antibiotics and Chemotherapy* 9. 649-659.
12. Sinski J. T. (1960) *J. Invest. Dermat.* 35. 131-133.
13. Ridley M. F. (1960) *Australian J. Dermat.* 5. 209-213.
14. McDonough E. S., Georg L. K., Ajello L. and Brinkman S. (1960) *Mycopath. Mycol. Appl.* 13. 113-116.
15. ALLEN, A. M., DREWRY, R. A., a. WEAVER, R. E.: Evaluation of two new color indicator media for diagnosis of dermatophytosis. - *Arch. Derm.*, 102; 68-70 (1970).
16. MERTZ, W. G., BERGER, C. L., a. SILVA-HUTNER, M.: Media with pH-indicator for the isolation of dermatophytes. - *Arch. Derm.*, 102; 545-547 (1970).
17. TAPLIN, D., ZAIAS, N., REBELL, G., a. BLANK, H.: Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). - *Arch. Derm.*, 99; 203-209 (1969). TAPLIN, D., ALLEN, A. M., a. MERTZ, P. M.: Experience with a new indicator medium (DTM) for the isolation of dermatophyte fungi, in *Proceedings of the International Symposium of Mycoses.*, scientific publication 205. Washington, D.C. Pan American Health Organization, 1970, pp. 55-58.