

# Procédure

**Remarques essentielles concernant le prélèvement des échantillons :** le prélèvement d'échantillons présente une grande incertitude lors de l'utilisation de ce dispositif.

**ONGLES** - Il est souvent difficile de recueillir des échantillons viables à partir d'ongles infectés, car les organismes vivants se trouvent loin sous l'ongle. Pour obtenir des résultats optimaux, couper les ongles en petits morceaux.

**CHEVEUX** - Les échantillons doivent être prélevés à l'extrémité non infectée et plusieurs petits morceaux (3 à 6) d'environ 2 cm de long doivent être coupés à partir de la partie infectée pour permettre l'inoculation sur le milieu.

**PEAU** - Les résidus doivent être prélevés à l'aide d'un inoculateur préalablement humidifié avec le milieu ou d'une lame tranchante à partir du bord externe d'une lésion active. Le liquide vésiculaire est inacceptable pour la culture des dermatophytes. En cas de vésicule, les échantillons cutanés doivent être prélevés à partir de la surface.

## Matériel fourni

- InTray Dermatophyte

## Matériel requis mais non fourni

- Inoculateur stérile (par ex. écouvillon en coton/pince/lame de scalpel)
- Incubateur de laboratoire avec capacité d'incubation entre 18 et 30 °C

## Préparation de l'échantillon :

Utiliser une technique aseptique pendant le prélèvement et la manipulation des échantillons. Retirer tout résidu de savon de la zone d'échantillonnage. Nettoyer la zone avec de l'alcool à 70 % et laisser sécher à l'air libre.

## Recueil de l'échantillon :

InTray Dermatophyte est conçu pour cultiver des échantillons de cheveux, de peau et d'ongles (c'est-à-dire des coupes ou des résidus). Tous les échantillons doivent être manipulés conformément aux directives des Centres de contrôle et de prévention des maladies (CDC) relatives à l'isolation des substances infectieuses : [cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/isolation](http://cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/isolation)

## 1 Préparer le plateau InTray

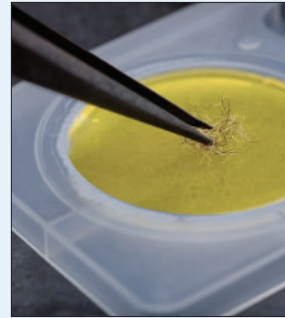


Noter immédiatement sur l'étiquette du plateau les informations relatives à l'animal et à l'échantillon, ainsi que la date. Décoller le coin inférieur droit de l'étiquette du plateau près du hublot transparent de manière à ce que l'opercule de protection soit entièrement visible.

Retirer l'opercule en tirant sur la languette. Mettre l'opercule au rebut.

**NE PAS RETIRER NI ALTÉRER LA BANDE FILTRANTE BLANCHE AU-DESSUS DE L'ORIFICE D'AÉRATION !**

## 2 Inoculer l'échantillon



Ensemencer en appliquant l'échantillon (ongle, cheveu ou résidu de peau) sur la surface du milieu.

Refermer tout autour du plateau pour assurer une étanchéité complète en appuyant sur les bords de l'étiquette contre le plateau en plastique.

**NE PAS COUVRIR LE HUBLOT D'OBSERVATION.** Une fermeture hermétique empêche le dessèchement !

## Incubation

Incuber les plateaux inoculés jusqu'à 14 jours, dans l'obscurité, à une température comprise entre 18 et 30 °C. Observer quotidiennement les changements de couleur sur les plateaux, à travers le hublot d'observation transparent.

## Contrôle qualité

Ce produit a été testé et respecte la norme approuvée CLSI (anciennement NCCLS) relative aux milieux de culture du commerce (M22-A3). Lors de la fabrication, des tests de contrôle qualité sont effectués sur chaque lot d'InTray Dermatophyte. La capacité des milieux à assurer la croissance et à présenter la morphologie et les réactions biochimiques attendues est vérifiée pour chaque lot. Consulter le certificat d'analyse pour accéder aux informations spécifiques au lot.

## Souches recommandées pour les tests de CQ sur InTray Dermatophyte

Souche testée	ATCC®	Résultat attendu
<i>T. mentagrophytes</i>	9533	Croissance
<i>T. rubrum</i>	28188	Croissance
<i>M. gypseum</i>	14683	Croissance
<i>A. brasiliensis</i>	16404	Inhibition significative
<i>S. aureus</i>	25923	Inhibition significative
<i>E. coli</i>	25922	Inhibition significative
<i>C. albicans</i>	60193	Inhibition significative

# Lecture des résultats

## Évaluation

Observer le milieu à la recherche d'une croissance et d'un changement de couleur. Sans ouvrir InTray Dermatophyte, placer le plateau non ouvert sous une lentille de microscope pour observer les organismes à l'aide de l'objectif 10x (grossissement 100x) et ainsi visualiser les structures fongiques distinctes (par ex., hyphes, micro/macroconidies). Plateaux à utiliser avec l'objectif 10x UNIQUEMENT ! Aucune coloration n'est nécessaire. Voir le tableau d'identification ci-dessous.

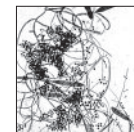
**Croissance mixte :** les dermatophytes et les saprophytes (contaminants) se développent sur le même plateau. Les dermatophytes commencent à se développer en premier et provoquent le changement de couleur du milieu qui devient rouge autour de la colonie. Les saprophytes se développent ensuite, mais aucun changement de couleur autour de la colonie n'est observé tant que celle-ci n'est pas arrivée à maturité. La couleur indiquant la croissance de la colonie passera alors du blanc au jaune, noir, marron ou vert.

**Résultats positifs :** si, dans un délai de 1 à 14 jours, la couleur du milieu passe au rouge à l'emplacement de l'échantillon et que des colonies blanchâtres apparaissent, l'InTray Dermatophyte est présumé positif.

**Résultats négatifs :** les plateaux qui ne montrent aucune croissance de colonie ou changement de couleur 14 jours après l'inoculation sont présumés négatifs.

## Identification du dermatophyte

Il s'agit d'une sélection d'organismes couramment rencontrés. Veuillez consulter notre tableau mural DM (Cat. N° 100-000-005 ; également disponible en ligne sur [biomeddiagnostics.com](http://biomeddiagnostics.com)) pour obtenir une sélection plus détaillée, ainsi que les références répertoriées ci-dessous et d'autres références standard en matière de mycologie et de microbiologie.



Hyphes septées de **Trichophyton mentagrophytes**. Macroconidies : (4 à 8 x 20 à 50 µm) parfois présentes, en forme de cigares, à parois fines, connexion étroite aux hyphes septées, de 1 à 6 cellules, retrouvées dans les jeunes cultures de 5 à 10 jours.

Microconidies : généralement présentes dans les cultures poudreuses, très rondes, regroupées sur des conidiophores ramifiés ; dans les cultures duveteuses, plus petites, moins nombreuses, en forme de goutte d'eau et facilement confondues avec celles de *T. rubrum*.



Hyphes septées de **Microsporium canis**. Macroconidies : (10 à 25 x 35 à 110 µm) nombreuses, longues, en forme de broche, rugueuses, aux parois épaisses aux extrémités en forme de poignées. Microconidies : peu nombreuses, lisses et en forme de bâtonnets.

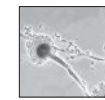


Hyphes septées de **Microsporium gypseum**. Macroconidies : (8 à 16 x 22 à 60 µm), nombreuses, symétriques, rugueuses, à parois relativement fines aux extrémités arrondies, non pointues comme celles de *M. canis*. Microconidies : généralement présentes, en forme de bâtonnets.

## Identification des saprophytes (contaminants)



Les hyphes de **Alternaria sp.** sont septées et sombres. Les conidiophores sont septés, de longueur variable et parfois ramifiés. Les macroconidies sont grandes (7 à 10 x 23 à 24 µm), marron, possèdent des chaînes transversales et longitudinales, et se trouvent seules ou groupées. Elles sont généralement rondes à l'extrémité la plus proche du conidiophore, ce qui leur donne une forme de bâtonnets. Jour 10 à 14 : croissance de la colonie sans changement de la couleur initiale. Morphologie de la colonie : formation de colonies de couleur blanc-grisâtre et laineuses 10 à 14 jours après l'inoculation, qui deviennent ensuite noir/marron verdâtre avec une bordure claire. Elle peut finalement être couverte par de courtes hyphes aériennes grisâtres. Le côté arrière est noir. Le milieu devient rose lorsque la colonie change de couleur.



Morphologie microscopique de **Aspergillus sp.** : hyphe septée (diamètre de 2,5 à 8 µm) ; le conidiophore non ramifié provient d'une cellule spécialisée du pied. Le conidiophore est plus large à son extrémité, formant une vésicule gonflée complètement ou partiellement recouverte de phialides en forme de fiole. Les phialides produisent des chaînes de conidies principalement rondes, parfois rugueuses (diamètre de 2 à 5 µm). Jour 10 à 14 : croissance de la colonie sans changement de la couleur initiale. Formation de colonies blanches cotonneuses 10 à 14 jours après l'inoculation qui deviennent ensuite jaunes, vertes, noires ou marron. Le côté arrière est blanc, doré ou marron. Le milieu devient rouge lorsque la colonie change de couleur.



Morphologie microscopique de **Penicillium sp.** : hyphes septées (diamètre de 1,5 à 5 µm) avec des conidiophores ramifiés dont les branches secondaires sont appelées métula. Celles-ci comportent des phialides en forme de fiole qui portent des chaînes non ramifiées de conidies lisses ou rugueuses (diamètre de 2,5 à 5 µm). L'ensemble de la structure a la forme caractéristique du « penicillium » ou « pinceau ». Jour 10 à 14 : croissance de la colonie sans changement de la couleur initiale. Morphologie de la colonie : la surface est d'abord blanche, puis devient très poudreuse et bleu vert avec une bordure blanche. Certaines espèces moins courantes sont de couleur différente. L'arrière est généralement blanc, mais peut être rouge ou marron. Le milieu pour la culture des dermatophytes devient rose/rouge lorsque la colonie change de couleur.

