

InTray DM

Обогатена среда за дерматофити

Предназначение

InTray DM е обогатена дерматофитна среда за откриване на дерматофити в клинични проби.

Принцип на системата

Дерматофитите са гъби, спадащи към родовете *Microsporum*, *Trichophyton* и *Epidermophyton*. Те имат способността да метаболизират кератин в кожата, косата и ноктите на техните гостоприемници. Гъбите по принцип инвазират кожната тъкан на живи гостоприемници, но рядко проникват в подкожната тъкан. Дерматомикоза и трихофития са два често използвани термина, които описват дерматофитоза.

InTray DM съдържа среда, която се оцветява в червено при растеж на дерматофити. Промяна на цвета се проявява между 1-я и 14-я ден при инкубиране на стайна температура. Средата позволява характерен растеж на колонии с типични отличителни белези за идентифициране както макро-, така и микроскопски. Средата инхибира растежа на повечето грам-положителни, грам-отрицателни бактерии, дрожди и сапрофитни гъби.

Събиране и третиране на пробите: Използвайте стерилни техники. Изчистете остатъци от детергенти от мястото на взимане на пробата и го почистете със 70% алкохол. Избягвайте наличието на влажност. Взимането на пробата е определящо при използването на InTray DM. Средата е предназначена за култивиране на проби от косъмчета, остъргвания от кожа, нокти или остъргвания от нокти. Косъмчетата трябва да се хващат откъм неинфектирания край и да се отрежат съответно няколко (3-6) малки парченца (около 2 см) от инфектирания край за инокулиране повърхността на средата. Остъргвания на кожата трябва да се осъществяват с остър предмет откъм външните краища на активни кожни поражения. Да не се използва везикуларна течност за дерматофитна култура. Ако инфектираната площ е покрита с везикули, остържете повърхността. Могат да се култивират както нокти, така и остъргвания от вътрешната част на ноктите. За получаване на добри резултати нарежете ноктите на малки парченца. Вижте референтната литература за събиране и третиране на пробите. Ветеринарите могат да използват метода "tooth brush".

Много често взимането на жизнеспособен материал от инфектирани нокти е трудно, тъй като живите организми се разполагат дълбоко под самия нокът. Ако все пак има силни съмнения за гъбична инфекция и InTray DM дава отрицателен резултат, е подходящо да направите теста отново, като отделите повече внимание на взимането на пробата.

Всички проби да се третират според съответните изисквания за потенциално инфекциозни човешки серум, кръв или други телесни течности и материали. След инокулиране отворяйте петрито само при подходящи условия на безопасност.

Инокулиране

Издърпайте външното покривно фолио откъм долния десен ъгъл до прозрачния прозорец, така че да видите изцяло предпазното фолио над агара. Премахнете предпазното фолио и го изхвърлете.

Не премахвайте и не покривайте белия филтър над отвора за влизане на въздух.



Фиг 1

Инокулирайте пробата (косъм, нокът или остъргвания от кожа) на повърхността на средата. Стерилно йозе, навлажнено на повърхността на средата, е подходящо за остъргвания. За парченца косми и нокти може да използвате стерилни пинсети.

Не оставяйте косъмчетата да стърчат извън кладенчето.



Фиг 2

Затворете добре петрито, като притискате краищата на външното фолио към пластмасовата подложка. **Притиснете откъм всички краища на петрито, за да сте сигурни, че е затворено добре.** (Фиг 3) Отбележете дата и информация за пациента. **Не покривайте прозрачния прозорец.**



Фиг 3

Инкубирайте до 14 дни на стайна температура (18°C-25°C) на тъмно. Всеки ден проверявайте за промяна в цвета на средата. **Не отваряйте!** Наблюдавайте растежа на колонии и промяната в цвета през прозрачния прозорец.

Резултати

Проверявайте средата за растеж и промяна в цвета, без да отваряте петрито.

Положителен резултат: Ако от 1 до 14 дни цветът на средата се промени в червено и на мястото на пробата прораснат бели колонии, се предполага позитивен резултат за дерматофити.

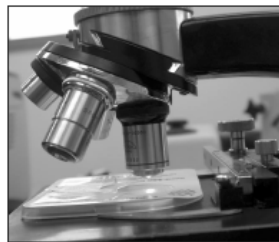
Микроскопска идентификация: Използвайте 100x и 200x увеличение, за да наблюдавате микроорганизмите, без да отваряте петрито. Не е необходимо оцветяване. Използвайте идентификационната таблица.

Отрицателен резултат: Резултатът се смята за отрицателен, ако не се прояви промяна в цвета на средата до 14 дни след инокулиране.

Ограничения

Растеж се наблюдава при температура 18°-25°C.

Цветът на средата и растежът на колонии ще варира в зависимост от физическото състояние на пациента и медицинската му история. Проби от пациенти, лекувани от трихофития (с лекарства, ОТС продукти, билки, шампоани и т.н.), може да не предизвикат растеж на видими макроскопски



колонии, но все пак да предизвикат промяна в цвета и да се наблюдава наличие на хифи и спори под микроскоп.

Остатъци от сапун/детергенти веднага предизвикват промяна на цвета и средата възвръща жълтия си цвят до 24 часа. Петритата все още са годни за употреба.

Лицензирани лаборатории могат да идентифицират растящите микроорганизми под микроскоп през прозрачния прозорец, без да отваряте петрито.

Контрол по качеството

Продуктът е тестван и отговаря на необходимите стандарти за готова среда за комерсиална употреба. При производството на всяка партида се правят тестове за качество. Способността на средата да поддържа растеж, да показва очакваните биохимични реакции и морфология са потвърдени.

Тестван щам	ATCC	Очаквани резултати
<i>T. mentagrophytes</i>	9533	Растеж
<i>T. rubrum</i>	28188	Растеж
<i>T. tonsurans</i>	28942	Растеж
<i>M. gypseum</i>	14683	Растеж
<i>Aspergillus niger</i>	16404	Значително инхибиране
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Значително инхибиране
<i>E. coli</i>	25922	Значително инхибиране
<i>C. albicans</i>	60193	Значително инхибиране

Съхранение

Съхранявайте InTray DM при стайна температура (18°-25°C). Избягвайте съхранение в хладилник, замразяване или продължително излагане на температури над 40°C. Не използвайте, ако средата показва признаци на влошено състояние или замърсяване. Срокът на годност е 27 месеца от датата на производство.

Реагенти

Средата на InTray DM съдържа соев пептон, въглехидрати, растежни стимуланти, антимикробни агенти, включително циклохексимид, цветен индикатор и агар в дестилирана вода.

Предпазни мерки

Само за *in vitro* диагностика. Веднъж инокулирано и запечатано, петрито да се отваря само при необходимите мерки за безопасност. Да се автоклавира или да се вземат сходни мерки при изхвърлянето му поради наличието на инфекциозни материали.

Внимание! Продуктът съдържа химикал, изведен в Щата Калифорния като канцерогенен, тератогенен и причиняващ вреда на репродуктивната система.

Етикетът на InTray DM съдържа част, в която може да се записват данни за пациента. Данните са: номер на пациента, проба, източник, име и дата. Използването на това поле е по усмотрение на практикуващия лекар.



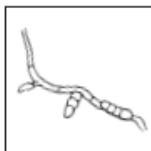
REF Кат. № 10-4001 (20 бр.)

IVD Само за ин-витро диагностика



Производство: BioMed Diagnostics Inc., USA
Представителство, внос и дистрибуция: Фромвулеви ЕООД,
София 1505, ул. „Марица“ 10 тел.: (02) 9433167
E-mail: diagnose@fromvoulevs.com; www.fromvoulevs.com

Идентификационна таблица за дерматофити



Epidermophyton floccosum

Хифи, разделени със септи. Макроконидии: (7-12 x 20-40 μm) гладки, тънки с дебели стени, с пръчковидна форма и заоблени краища, две до шест клетки, единични или на клъстери в млади култури; при по-стари култури макроконидиите често се трансформират в хламидоконидии. Микроконидии: няма.

Ден 2-10: Промяна на цвета на средата в червено с растеж на колонии

***Epidermophyton floccosum* (Dermatophyte)**

Морфология на колонииите – бели, памукообразни.



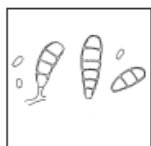
Microsporium canis

Microsporium canis – Хифи, разделени със септи. Макроконидии: (10-25 x 35-110 μm) множество, дълги, вретеновидни, грапави дебели стени ясно се виждат в заоблени като топка краища с поне пет прегради. Микроконидии: малко на брой, гладки и пръчковидни.

Ден 3-6: Промяна на цвета на средата в червено с растеж на колонии *Microsporium*

***canis* (Dermatophyte)**

Морфология на колонииите – бели, пухкави до памукообразни.



Microsporium gallinae

Microsporium gallinae – Морфология под микроскоп – образува хифи със септи, макроконидии и микроконидии. Макроконидиите наподобяват клавикули (6-8 на 15-50 μm) с две до десет клетки. Най-често се наблюдават 5 до 6 клетки. Леко са извити с тънки остри израстъчета в горната част. Микроконидиите са една цяла клетка с яйцевидна до крушовидна форма.

Ден 2-10: Промяна на цвета на средата в червено с растеж на колонии *Microsporium gallinae* (Dermatophyte)

Морфология на колонииите – повърхността е леко пухкава или гладка, бели.



Microsporium gypseum

Microsporium gypseum – Хифи, разделени със септи. Макроконидии: (8-16 x 22-60 μm) множество, симетрични, грапави и сравнително тънки стени, със заоблени краища, не заострени като *M. canis*, не повече от шест отделения. Микроконидии: обикновени се наблюдават, пръчковидни.

Ден 2-6: Промяна на цвета на средата в червено с растеж на колонии *Microsporium gypseum* (Dermatophyte)

Морфология на колонииите – бели, памукообразни.



Microsporium nanum

Microsporium nanum – Морфология под микроскоп – образува хифи със септи; Макроконидии: (4-8 на 12-18 μm) са грапави с относително тънки стени (като при *M. gypseum*), яйцевидни с обща основа, обикновено с две клетки. Микроконидиите са пръчковидни с гладки стени и броят им може да варира.

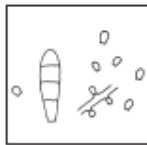
Ден 2-7: Промяна на цвета на средата в червено с растеж на колонии *Microsporium nanum* (Dermatophyte)

Морфология на колонииите – бели, памукообразни.

Смесен растеж: Дерматофити и Сапрофити (контаминиращи микроорганизми) растат на една и съща среда. Дерматофитите започват да растат първи и предизвикват промяна на цвета на средата в червено около колонията. Сапрофитите растат без промяна цвета на средата, докато самата колония не промени цвета си от бяло в жълто, черно, кафяво или зелено.

Повечето замърсявания могат да бъдат елиминирани, като използвате стерилна техника и 70% алкохол при събиране на пробата (алкохолът убива повечето замърсяващи микроорганизми), и като запечатвате петрието, така че да не се образуват мехурчета и процепчета около кладенчето.

Идентификационна таблица за дерматофити

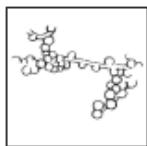


Trichophyton equinum

Trichophyton equinum – Морфология под микроскоп – множество микроконидии, наподобяващи клавикули или с крушовидна форма и неподвижни или сферични като прикрепени около стъбълца, се формират по протежението на хифите. Макроконидии рядко се образуват, но когато присъстват, са гладки с тънки стени, с различен размер и наподобяват клавикули. Понякога се наблюдават възели, а микроконидиите често претърпяват трансформация в хламидоконидии в по-стари култури.

Ден 2-7: Промяна на цвета на средата в червено с растеж на колонии *Trichophyton equinum* (Dermatophyte)

Морфология на колонииите – бели, памукообразни.

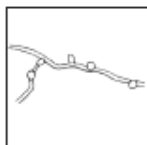


Trichophyton mentagrophytes

Trichophyton mentagrophytes – Хифи със септи. Макроконидии: (4-8 x 20-50 μm), понякога присъстват, издължена овална форма, с тънки стени, тясно прикрепени към хифите, с една до шест клетки в млади култури на 5-10 дни. Микроконидии: обикновени присъстват в прахообразни култури, кръгли, струпани или разположени като клончета по конидиофорите; в пухкави култури са по-малки и по-малко под формата на капки и лесно се бъркат с тези на *Trichophyton rubrum*. При някои щамове се наблюдават спирални телца и възелчета.

Ден 2-10: Промяна на цвета на средата в червено с растеж на колонии *Trichophyton mentagrophytes* (Dermatophyte)

Морфология на колонииите – бели, памукообразни.

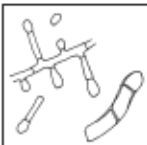


Trichophyton rubrum

Trichophyton rubrum – Хифи със септи. Макроконидии: (4-6 x 15-30 μm) множество, редки или отсъстващи, могат обаче да са дълги тесни, с тънки стени, успоредни страни, с две до осем клетки, могат да се формират в краищата самостоятелно или в групи. Микроконидии: (2-3 x 3-5 μm) латерално разположени, под формата на капка, формират се на макроконидиите. Артропоконидии се формират и върху макроконидиите и върху хифите. При грануларните култури макроконидиите са по-големи, по-кръгли и повече на брой, отколкото при пухкавите щамове.

Ден 3-7: Промяна на цвета на средата в червено с растеж на колонии *Trichophyton rubrum* (Dermatophyte)

Морфология на колонииите – бели, памукообразни.



Trichophyton tonsurans

Trichophyton tonsurans – Морфология под микроскоп – Хифи със септи с множество разнообразни по форма микроконидии по цялото протежение на хифите или на къси конидиофори, които са перпендикулярни на родителската хифа. Микроконидиите са обикновено под формата на капка или пръчковидни, но могат да се издължат и уголемят до формата на балон. Вътрешно разположени и терминални хламидоконидии са често срещани в по-стари култури. Макроконидиите са редки, с неправилна форма и леко дебели стени. Много имат спираловидна форма и артроспори. Обича да

расте вътре в средата, не на повърхността.

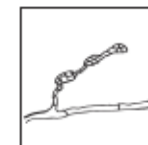
Ден 3-14: Промяна на цвета на средата в червено с растеж на колонии *Trichophyton tonsurans* (Dermatophyte)

Морфология на колонииите – бели в началото, могат да са полупрозрачни, преди да станат бели или оранжеви.

Литература:

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

Контаминанти



Alternaria sp.

Alternaria sp. – Морфология под микроскоп – Хифите са тъмни и със септи. Конидиофорите също са със септи, разнообразни по дължина и понякога разклонени. Конидиите са широки (7-10 на 23-24 μm), кафяви, имат напречни и надлъжни прегради. Понякога образуват дъщерни тръбчици. Биват самостоятелни или във вериги. Обикновено са с кръгли откъм края на конидиофорите и тесни откъм другия край, където имат пръчковидна форма.

Ден 10-14: растеж на колонии без първоначална промяна в цвета на средата.

***Alternaria sp.* (Saprophyte)**

Морфология на колонииите – повърхността в началото е сиво-бяла и влакнеста. По-късно става зеленикаво-черна или кафява със светла граница. Може евентуално да се покрие от къса сивкава хифа. Обратната страна е черна. **DM средата придобива розов цвят, когато колонията промени цвета си.**



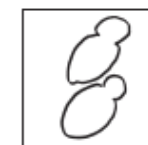
Aspergillus sp.

Aspergillus sp. – Морфология под микроскоп – Хифи със септи (2.5-8 μm в диаметър); неразклонени конидиофори излизат от специализирани клетки, разположени в основата. Конидиофорите са уголемени на върха и формират издуто мехурче. Мехурчетата са изцяло или частично покрити с бутилковидни филиади, които могат да се развият директно върху мехурчето (унисериатни форми) или да се поддържат от клетка – метула (бисериатни форми). Филиадите образуват вериги от кръгли и понякога грапави конидии (2-5 μm в диаметър).

Ден 10-14: Растеж на колонии без първоначална промяна в цвета на средата.

***Aspergillus sp.* (Saprophyte)**

Морфология на колонииите – повърхността е първоначално бяла, после леко жълта, зелена, черна или кафява; кадифена или памукообразна текстура. От долната страна е бяла, златиста или кафява. **DM средата придобива розов или червен цвят, когато колонията промени цвета си от бяла на жълт, зелен, черен или кафяв.**



Candida albicans & *Candida tropicalis*

Candida albicans* & *Candida tropicalis – Под микроскоп се наблюдават струпвания от мехурчета в средата. Дрожидите са често срещани замърсители и в средата има инхибитори на повечето видове, които могат да изместят дерматофитите. Въпреки това трябва да се има предвид, че дрожидите могат да бъдат патогенни в зависимост от цялостното състояние на пациента и медицинската му история.

Ден 1-5: Промяна в цвета в розово до червено, няма видим растеж.

***Candida albicans* & *Candida tropicalis* (Yeast)**



Penicillium sp.

Penicillium sp. – Морфология под микроскоп – Хифи със септи (1.5-5 μm в диаметър) с разклонени конидиофори, които имат вторични клончета, известни като метули. На метулите хростовидно са разположени бутилковидни филиади, които носят разклонени вериги от гладки или грапави конидии (2.5-5 μm в диаметър). Цялата структура формира характерният вид на „penicillus“ или още „четка“.

Ден 10-14: Растеж на колонии без първоначална промяна в цвета на средата.

***Penicillium sp.* (Saprophyte)**

Морфология на колонииите – повърхността първоначално е бяла, после става прахообразна, синкаво зелена с бяла граница. Някои по-рядко срещани видове се различават по цвят и текстура. От долната страна колонията обикновено е бяла, но може да е червена или кафява. **DM средата променя цвета си в розово или червено, когато колонията промени цвета си.**

Последна редакция: 26062007