

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I. INTRODUCCION

Mycosel Agar (agar **Mycosel**) es un medio selectivo para el aislamiento de hongos patógenos a partir de materiales con flora mixta de otros hongos y bacterias.

II. REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Inocular los recipientes con un asa calibrada de 0,01 mL con cultivos de caldo fúngico (de hasta 7 días de antigüedad) de los hongos y diluciones de 10^{-1} de cultivos de la cepa *Escherichia* de 18 – 24 h.
 - b. Incubar los tubos con las tapas flojas a 25 ± 2 °C en una atmósfera aerobia.
 - c. Incluir agares inclinados de dextrosa Sabouraud como controles no selectivos para todas las cepas fúngicas y agares inclinados de soja **Trypticase** como controles de crecimiento para las cepas de *Escherichia*.
2. Examinar si los tubos muestran signos de crecimiento durante un periodo de hasta 7 días.
3. Resultados previstos

Organismos de control CLSI (cepas ATCC)

* <i>Candida albicans</i> (10231)	Crecimiento
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (9533)	Crecimiento
* <i>Escherichia coli</i> (25922)	Inhibición (parcial a completa)
* <i>Aspergillus niger</i> (16404)	Inhibición (parcial a completa)

Cepa adicional utilizada:

Penicillium roquefortii Inhibición (parcial)
ATCC 9295

*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

III. CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar tubos, frascos, matraces o frascos **Mycoflask** de la manera descrita en "Deterioro del producto".
2. Examinar visualmente los tubos, frascos, matraces o frascos **Mycoflask** representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Incubar tubos, frascos, matraces o frascos **Mycoflask** representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar después de 7 días si hay indicios de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV. USO PREVISTO

Mycosel Agar es un medio altamente selectivo con cicloheximida y cloranfenicol. Se recomienda para el aislamiento de hongos patógenos a partir de materiales con una gran cantidad de flora de otros hongos y bacterias^{1,2}.

V. RESUMEN Y EXPLICACION

Mycosel Agar fue desarrollado utilizando los elementos de **Mycophil Agar** como base nutritiva a la que se añadieron cicloheximida y cloranfenicol como agentes selectivos. Se utiliza ampliamente para el aislamiento de hongos a partir de una variedad de fuentes, y se recomienda para la recuperación de dermatofitos³.

VI. PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Las propiedades nutritivas de **Mycosel Agar** las suministra la peptona preparada a partir de harina de soja. La dextrosa es una fuente de energía para el metabolismo de los hongos. La cicloheximida inhibe la mayoría de los hongos saprofitos. El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro que inhibe una amplia variedad de bacterias gram positivas y gram negativas.

VII. REACTIVOS

Mycosel Agar

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido papaico de harina de soja	10,0	g
Dextrosa	10,0	g
Agar	15,5	g
Cicloheximida	0,4	g
Cloranfenicol	0,05	g

* Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos, frascos y matraces con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"⁴⁻⁷ y las directrices del centro. Después de su utilización, los tubos preparados, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento

Al recibir los tubos, frascos y matraces, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 8 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que vayan a utilizarse. Reducir al mínimo la exposición a la luz. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos recomendados de incubación. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto

No utilizar los medios si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII. RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes¹⁻³. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX. PROCEDIMIENTO

Material suministrado

Mycosel Agar

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

Extender las muestras tan pronto como sea posible después de recibirlas en el laboratorio. Extender la muestra en el medio con un asa de inoculación estéril para obtener colonias aisladas. Consultar las referencias correspondientes para obtener información acerca del procesamiento e inoculación de muestras¹⁻³.

Para el aislamiento de hongos de muestras potencialmente contaminadas, se debe inocular un medio selectivo junto con uno no selectivo. Incubar los recipientes a 25 – 30 °C con mayor humedad.

Para el aislamiento de hongos causantes de micosis sistémicas, se deben inocular dos juegos de medios, e incubar uno a 25 – 30 °C y el otro equivalente a 35 ± 2 °C. Todos los cultivos deben examinarse al menos una vez por semana para detectar crecimiento fúngico y deben mantenerse durante 4 – 6 semanas antes de reseñarse como negativos.

Control de calidad del usuario

Véase “Procedimientos de control de calidad”.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X. RESULTADOS

Después de una incubación suficiente, los recipientes deben mostrar colonias aisladas en áreas extendidas y crecimiento confluyente en áreas de inoculación densa.

Examinar los recipientes para ver si presentan colonias de hongos de morfología y color típicos⁸. Se recomienda realizar pruebas bioquímicas y procedimientos serológicos para confirmar los hallazgos.

XI. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Algunos hongos pueden ser inhibidos por los antibióticos en este medio⁹.

Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados^{1-3,8,9}.

XII. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de **Mycosel Agar Slants** se someten a prueba para determinar sus características de rendimiento. Con un asa calibrada de 0,01 mL, se inoculan mediante extensión muestras representativas con cultivos de caldo fúngico de *Candida albicans* (ATCC 10231), *Penicillium roquefortii* (ATCC 9295), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), una suspensión de esporas de *Aspergillus niger* (ATCC 16404) diluida a una concentración final de 50 – 300 UFC (unidades formadoras de colonias) por asa llena y un cultivo de caldo de soja **Trypticase** diluido a 10¹ de *Escherichia coli* (ATCC 25922). Después de la inoculación, los recipientes se incuban a 25 ± 2 °C y se efectúa su lectura para ver si presentan crecimiento y pigmentación de colonias después de 2, 5 y 7 días de incubación. *C. albicans* presenta crecimiento de medio a denso, con colonias de color blanco a crema. *T. mentagrophytes* presenta crecimiento de promedio a denso, con colonias de color blanco. El crecimiento de *P. roquefortii*, *A. niger* y *E. coli* es ligero o se encuentra inhibido por completo.

XIII. DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
220966	BBL Mycosel Agar Slants , pqt. de 10 tubos de tamaño A
220967	BBL Mycosel Agar Slants , caja de 100 tubos de tamaño A
297456	BBL Mycosel Agar Slants , caja de 100 tubos de tamaño C
296233	BBL Mycosel Agar , frascos de 1 oz., pqt de 10
295698	BBL Mycosel Agar , frascos de 1 oz., caja de 100
221130	BBL Mycosel Agar , frascos Mycoflask , pqt de 10
221131	BBL Mycosel Agar , frascos Mycoflask , caja de 100
297411	BBL Mycosel Agar , frascos de plástico, pqt. de 10
297718	BBL Mycosel Agar , frascos tipo Transgrow, caja de 100

XIV.REFERENCIAS

1. Weitzman, Kane and Summerbell. 1995. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover and R.H. Tenover (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
5. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
6. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
8. Ajello, L., L.K. Georg, W. Kaplan, and L. Kaufman. 1963. CDC laboratory manual for medical mycology. PHS Publication No. 994, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
9. Larone. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA
800-638-8663



BENEX Limited
Bay K 1a/d, Shannon Industrial Estate
Shannon, County Clare, Ireland
Tel: 353-61-47-29-20
Fax: 353-61-47-25-46

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, BBL, Mycoflask, Mycophil, Mycosel and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

©2007 BD