



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

Este medio se utiliza para el cultivo de dermatofitos y otros hongos patógenos y no patógenos a partir de muestras clínicas y no clínicas.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Para *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 inocular directamente con un asa de 0,01 mL llena de cultivo crecido en **BBL Sabouraud Dextrose Agar**.
 - b. Para *Candida albicans* ATCC 10231 y *Escherichia coli* ATCC 25922 inocular con suspensiones de 0,01 mL de solución salina diluidas a una concentración de $10^3 - 10^4$ UFC.
2. Incubar los tubos con las tapas flojas a 25 – 30 °C durante un máximo de 7 días, en una atmósfera aerobia.
3. Resultados previstos

Organismos	ATCC	Recuperación
* <i>Candida albicans</i>	10231	Crecimiento de mediano a denso
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Crecimiento de mediano a denso
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Inhibición (parcial a completa)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibición (parcial a completa)

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

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos como se describe en la sección "Deterioro del producto".
2. Examinar visualmente los tubos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Determinar el pH potenciométricamente a temperatura ambiente para verificar el cumplimiento de la especificación de $5,6 \pm 0,2$.
4. Incubar muestras representativas sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar si presentan contaminación microbiana después de 7 días.

INFORMACION SOBRE EL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

Este medio se utiliza en los procedimientos cualitativos para el cultivo de dermatofitos y otros hongos patógenos y no patógenos a partir de muestras clínicas y no clínicas.

V RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Sabouraud Dextrose Agar es un medio de uso general desarrollado por Sabouraud para el cultivo de dermatofitos¹. El pH bajo de aproximadamente 5,6 es favorable para el crecimiento de hongos, especialmente dermatofitos, e inhibe las bacterias contaminantes en las muestras clínicas².

Sin embargo, el pH ácido del medio también puede inhibir algunas especies de hongos². La adición de agentes antimicrobianos mejora la recuperación de hongos patógenos a partir de especies con alto grado de contaminación de bacterias y hongos saprofitos³.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El agar Sabouraud con dextrosa es un medio de peptona suplementado con dextrosa para favorecer el crecimiento de los hongos. La adición de antibióticos y agentes antifúngicos reduce el crecimiento de bacterias y hongos saprofitos, que interfieren con la recuperación de los dermatofitos y los hongos causantes de micosis sistémicas³. Cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro que inhibe una amplia variedad de bacterias gram negativas y gram positivas. La cicloheximida es un agente antifúngico activo principalmente contra los hongos saprofitos, sin inhibir las levaduras ni los dermatofitos.

VII REACTIVOS

Sabouraud Dextrose CC Agar

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína.....	5,0 g	Agar.....	15,0 g
Digerido péptico de tejido animal.....	5,0 g	Cloranfenicol.....	0,05 g
Dextrosa.....	40,0 g	Ciclohexamida.....	0,5 g

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

Advertencias y precauciones: Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos 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. Esterilizar en autoclave los tubos preparados, los recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado antes de desecharlos.

Instrucciones de almacenamiento: Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 8°C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que se vayan a utilizar. 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 un máximo de 6 semanas. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto: No utilizar el medio si muestra evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Para más detalles sobre la recogida y la manipulación de muestras, consultar los textos correspondientes⁸⁻¹¹.

IX PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Sabouraud Dextrose CC Agar

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis: Cumplir las técnicas asépticas.

Inocular el medio tan pronto como sea posible después de recibir la muestra en el laboratorio. Extender la muestra en el medio con un asa de inoculación estéril. Consultar los textos correspondientes para obtener información acerca del procesamiento e inoculación de muestras tales como tejidos, piel, cabello, uñas, etc.^{3,8-11}.

Para el aislamiento de hongos causantes de micosis cutáneas, se debe inocular un medio no selectivo junto con un medio selectivo. Incubar los tubos a 25 – 30 °C.

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 pertinentes del CLSI y la normativa de la CLIA para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X RESULTADOS

Examinar los tubos al menos una vez por semana para detectar crecimiento fúngico. Los cultivos deben mantenerse durante 4 – 6 semanas antes de notificarlos como negativos.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Sólo en raras ocasiones es posible detectar en un único medio todos los organismos de importancia potencial en una muestra. Los agentes de los medios selectivos pueden inhibir algunas cepas de las especies deseadas o permitir el crecimiento de una especie que supuestamente debían inhibir, en especial si la especie está presente en grandes cantidades en la muestra. Las muestras cultivadas en medios selectivos, por consiguiente, también deben cultivarse en medios no selectivos para obtener información adicional y favorecer la recuperación de patógenos potenciales.

Para la identificación de los microorganismos, éstos 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^{3,8,9,11-13}.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Sabouraud Dextrose CC Agar se analizan para verificar las características de rendimiento previstas. Las muestras representativas del lote se inoculan directamente con *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 cultivados en BBL Sabouraud Dextrose Agar. Las muestras también se analizan con suspensiones de solución salina normales de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Candida albicans* ATCC 10231 diluidos a una concentración de 10³ – 10⁴ UFC. Los tubos se incuban con la tapas flojas a 25 – 30 °C durante un máximo de 7 días en atmósfera aerobia. Se observa crecimiento promedio a denso con *T. mentagrophytes* y *C. albicans*. *A. brasiliensis* y *E. coli* son inhibidos de parcial a completamente.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

297649 **BD BBL Sabouraud Dextrose CC Agar**, pqt. de 10 tubos inclinados de tamaño A

XIV REFERENCIAS

1. Sabouraud, R. 1910. Les teignes, p. 553. Masson et Cie, Paris.
2. 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.
3. Weitzman, I., J. Kane, and R.C. Summerbell. 1995. *Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton*, and agents of superficial mycoses, p. 791-808. 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.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, 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. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th 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 the risks related to exposure to the 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. Haley, L.D., H. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech 11, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical mycology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. Merz, W.G., and G.D. Roberts. 1995. Detection and recovery of fungi from clinical specimens, p. 709-722. 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.
11. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
12. Larone, D.H. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1992. Mycology, p. 791-877. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 4th ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

 Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD.