

Sistema de identificación de levaduras

INTRODUCCIÓN Y OBJETO DEL ENSAYO

La galería API 20 C AUX es un sistema para la identificación precisa de las levaduras que se encuentran más frecuentemente. La lista completa de las especies identificables por el sistema están indicadas en la Tabla de Identificación al final de esta ficha técnica.

PRINCIPIO

La galería API 20 C AUX está constituida por 20 cúpulas que contienen substratos deshidratados y permiten efectuar 19 ensayos de asimilación. Las cúpulas se inoculan con un medio mínimo semi-agar y las levaduras crecen solamente si son capaces de utilizar el substrato correspondiente.

La lectura de estas reacciones se realiza por comparación con los testigos de crecimiento y la identificación se obtiene con la ayuda del Catálogo Analítico o del software de identificación.

PRESENTACIÓN (caja de 25 tests)

- 25 galerías API 20 C AUX
- 25 cámaras de incubación
- 25 ampollas de API C Medium
- 25 hojas de resultados
- 1 ficha técnica

COMPOSICIÓN**Galería**

La composición de la galería API 20 C AUX puede verse en la lista de ensayos que se detalla a continuación:

ENSAYOS	SUBSTRATOS	QTE (mg/cúp.)
0	Ninguno	-
GLU	D-GLUcosa	1,2
GLY	GLYcerol	1,2
2KG	2-ceto-Gluconato cálcico	1,2
ARA	L-ARAbinosa	1,2
XYL	D-XYLosa	1,2
ADO	ADOnitol	1,2
XLT	XyLiToI	1,2
GAL	D-GALactosa	1,9
INO	INOsitol	2,36
SOR	D-SORbitol	1,2
MDG	Metil- α D-Glucopiranosida	1,2
NAG	N-Acetil-Glucosamina	1,2
CEL	D-CELLobiosa	1,2
LAC	D-LACTosa (origen bovino)	1,2
MAL	D-MALtosa	1,2
SAC	D-SACarosa	1,2
TRE	D-TREhalosa	1,2
MLZ	D-MeLeZitosa	1,2
RAF	D-RAFinosa	1,9

Medio

API C Medium 7 ml		
	Sulfato amónico	5 g
	Fosfato monopotásico	0,31 g
	Fosfato dipotásico	0,45 g
	Fosfato disódico	0,92 g
	Cloruro sódico	0,1 g
	Cloruro cálcico	0,05 g
	Sulfato magnésico	0,2 g
	L-Histidina	0,005 g
	L-Triptófano	0,02 g
	L-Metionina	0,02 g
	Agente gelificante	0,5 g
	Solución de vitaminas	1 ml
	Solución de oligo-elementos	10 ml
	Agua desmineralizada	csp 1000 ml
	pH final : 6,4-6,8 (a 20-25°C)	

A pesar de contener el agente gelificante, **no es necesario fundir previamente el API C Medium**, ya que se pipetea con la misma facilidad que cualquier medio líquido. Con el fin de llevar los medios a la temperatura ambiente, es preferible sacar las ampollas del refrigerador algunas horas antes de su utilización. **No agitar.**

REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS**Reactivos / Instrumentación**

- API Suspensión Medium, 2 ml (ref. 70 700) o API NaCl 0,85 % Medium, 2 ml (ref. 20 070)
- Sabouraud Medium (ref. 42 026 o 43 171 o equivalente)
- McFarland Standard (ref. 70 900), punto 2
- Catálogo Analítico API 20 C AUX (Ref. 20 290), programa de identificación **apiweb™** (Ref. 40 011), sistema ATB™ o **mini API®** (consultar a bioMérieux)
- RAT Medium [Riz Agar Tween]

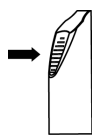
Material

- Pipetas o PSIpettes
- Protege-ampolla
- Gradillas para ampollas
- Equipo general de laboratorio de bacteriología

PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN

- **Para diagnóstico *in vitro* y control microbiológico.**
- **Exclusivamente para uso profesional.**
- Este equipo contiene compuestos de origen animal. El certificado del origen y/o el estado sanitario de los animales no puede garantizar de forma absoluta que estos productos no contienen ningún agente patógeno transmisible, se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relacionadas con los productos potencialmente infecciosos (no ingerir, no inhalar).
- Todas las muestras, cultivos de levaduras y productos inoculados deben ser considerados como potencialmente infecciosos y ser manipulados de manera apropiada. Durante toda la manipulación, deben respetarse las normas de asepsia y tomar las precauciones habituales de manipulación para el grupo de bacterias estudiadas; consultar: "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Revisión en vigor". Para información complementaria sobre las precauciones de manipulación, consultar: "*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, CDC/NIH – Última edición", o la reglamentación vigente en el país de utilización.

- No emplear los reactivos después de su fecha de caducidad.
- Antes de su utilización, verificar la integridad del envase y de sus componentes.
- No utilizar galerías que hayan sufrido una alteración física: cúpula deformada, ...
- Abrir las ampollas con delicadeza del modo siguiente:



- Introducir la ampolla en el protege-ampolla.
- Sujetar verticalmente el conjunto en una mano (tapón blanco hacia arriba).
- Presionar a fondo el tapón blanco.
- Ejercer una presión horizontal con el pulgar en la parte estriada del tapón para romper la extremidad de la ampolla.
- Retirar la ampolla del protege-ampolla y conservarlo para un próximo uso.
- Retirar delicadamente el tapón.

- Los resultados presentados han sido obtenidos mediante la metodología indicada en la presente ficha técnica. Toda desviación de la metodología puede alterar los resultados.
- La interpretación de los resultados del test debe ser realizada teniendo en cuenta un contexto clínico o de otro tipo, el origen de las muestras, los aspectos macro y microscópicos de la colonia y, eventualmente, los resultados de otros tests, especialmente del antifungigrama.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Las galerías y los medios se conservan a 2-8°C hasta la fecha límite de utilización indicada en el envase.

MUESTRAS (RECOGIDA Y PREPARACIÓN)

El API 20 C AUX no debe ser utilizado directamente a partir de muestras de origen clínico o de otro tipo.

Los microorganismos a identificar debe aislarse en una primera fase sobre un medio de cultivo apropiado según las técnicas usuales de bacteriología.

MODO DE EMPLEO

Preparación de la galería

- Reunir fondo y tapa de una cámara de incubación y repartir aproximadamente 5 ml de agua destilada o desmineralizada [o cualquier agua sin aditivos ni derivados susceptibles de liberar gases (Ej.: Cl₂, CO₂, etc.)] en los alvéolos para crear una atmósfera húmeda.
- Inscribir la referencia de la cepa en la lengüeta lateral de la cámara. (No inscribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede resultar desplazada durante la manipulación).
- Retirar la galería de su envase individual y depositarla en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo

- Abrir una ampolla de API Suspension Medium (2 ml) o una ampolla de API NaCl 0,85% Medium (2 ml) como se indica en el párrafo "Precauciones de utilización" de la presente ficha técnica, o utilizar un tubo que contenga 2 ml de la misma solución sin aditivo.
- Con la ayuda de una pipeta, extraer una fracción de colonia por aspiración o por toques sucesivos. Utilizar preferentemente cultivos jóvenes (18-24 horas).

- Realizar una suspensión de levaduras de turbidez igual a la del patrón 2 de McFarland. Esta suspensión debe ser utilizada inmediatamente después de su preparación.
- Abrir una ampolla de API C Medium tal y como se indica en el párrafo "Precauciones de utilización" y transferir a él 100 µl de la suspensión anterior. Homogeneizar con la pipeta evitando la formación de burbujas.

Inoculación de la galería

- Llenar las cúpulas con la suspensión obtenida en el API C Medium. Evitar la formación de burbujas colocando la punta de la pipeta sobre la zona lateral de la cúpula. Cuidar que se cree un nivel horizontal o ligeramente convexo pero jamás cóncavo. Las cúpulas parcial o excesivamente llenas son causa de resultados incorrectos.
- Volver a cerrar la cámara de incubación e incubar 48-72 horas (± 6 horas) a 29°C ± 2 °C.

LECTURA E INTERPRETACIÓN

Lectura de la galería

Después de 48 horas de incubación, o de 72 horas (si los ensayos, en particular la glucosa no resultan muy claros después de 48 horas), observar el crecimiento de las levaduras comparativamente con la cúpula 0, testigo negativo. Una cúpula **con mayor turbidez** que la de control nos indica una reacción **positiva** que ha de ser anotada en la hoja de resultados.

Con el fin de evitar toda contaminación durante una reincubación, levantar la tapa exclusivamente durante el periodo de lectura.

Ensayo Morfológico

Determinar la presencia de hifas (micelio) o de pseudoifas (pseudomicelio) con la ayuda del medio RAT [Riz Agar Tween].

Depositar una gota de la suspensión obtenida en API Suspension Medium o API NaCl 0,85 % Medium en el medio RAT, o seguir las recomendaciones del fabricante. Este ensayo constituye el nº 21 de la galería. Se considera positivo en caso de evidencia de la presencia de hifas o de pseudohifas.

Interpretación

La identificación se obtiene a partir del **perfil numérico**.

- Determinación del perfil numérico :
En la hoja de resultados, los tests están separados en grupos de tres y se asigna para cada uno un valor 1, 2 ó 4. Sumando al interior de cada grupo los números que corresponden a reacciones positivas, se obtienen 7 cifras que constituyen el perfil numérico.
- Identificación :
Se realiza a partir de la base de datos (V 4.0).
* Con la ayuda del Catálogo Analítico :
- Localizar el perfil numérico en la lista de los perfiles.
* Con la ayuda del sistema ATBTM, **mini API**®, o del programa de identificación **apiweb**™ :
- Introducir manualmente por teclado el perfil numérico de 7 cifras.

48 h	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+			
72 h	0	GLU	GLY	ZNG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	IND	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE			
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4			
	2			7			6			4			7			7			4		

2 764 774 Trichosporon asahii

CONTROL DE CALIDAD

Las galerías y medios son objeto de controles de calidad sistemáticos durante las diferentes etapas de su fabricación.

El **Control de Calidad Mínimo** puede utilizarse para verificar que las condiciones de almacenamiento y de transporte no han tenido impacto en las prestaciones de la galería API 20 C AUX. Este control puede realizarse siguiendo las instrucciones y criterios esperados que aparecen a continuación en relación a CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Como ningún sustrato de la galería no es sensible en las condiciones de almacenamiento y transporte, el Control de Calidad Mínimo puede realizarse probando las cepas: **Cryptococcus laurentii ATCC® 18803** que presenta las pruebas principalmente positivas y **Candida glabrata ATCC 15126**, que presenta las pruebas principalmente negativas con API 20 C AUX.

En el caso en que sea necesario un **Control de Calidad Completo**, las tres cepas siguientes deberán probarse para verificar las reacciones positivas y negativas de la mayor parte de las pruebas de la galería API 20 C AUX.

- | | | | |
|----------------------------------|------------|----------------------------------|-----------|
| 1. <i>Cryptococcus laurentii</i> | ATCC 18803 | 3. <i>Candida guilliermondii</i> | ATCC 6260 |
| 2. <i>Candida glabrata</i> | ATCC 15126 | | |

ATCC: American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	0	GLU	GLY	2KG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF
1.	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
2.	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
3.	-	+	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

Perfiles obtenidas después de 48 horas de incubación tras su cultivo en agar Sabouraud.

El usuario es responsable de garantizar que el control de calidad haya sido realizado conforme a la legislación local vigente.

LÍMITES DEL ENSAYO

- El sistema API 20 C AUX está destinado a la identificación de las levaduras presentes en la base de datos (ver Tabla de Identificación al final de la presente ficha técnica) y exclusivamente a ellas. No puede utilizarse para identificar otros microorganismos ni para excluir su presencia.
- Sólo se deben utilizar los cultivos puros que contengan un sólo tipo de microorganismo.

RESULTADOS ESPERADOS

Consultar la Tabla de Identificación que se incluye al final de esta ficha técnica para aclarar los resultados esperados en las diferentes reacciones bioquímicas.

PRESTACIONES

Han sido ensayadas 5156 cepas de diversos orígenes, así como cepas de colección pertenecientes a especies de la base de datos:

- 89,7 % de las cepas han sido identificadas correctamente (con o sin ensayos suplementarios).
- 6,1 % de las cepas no han sido identificadas.
- 4,2 % de las cepas se han identificado incorrectamente.

METODOLOGÍA	p. I
TABLA DE IDENTIFICACIÓN	p. II
BIBLIOGRAFÍA	p. III
CUADRO DE SÍMBOLOS	p. IV

ELIMINACION DE LOS RESIDUOS

Las ampollas de API C Medium no utilizadas pueden ser eliminadas como residuo no peligroso.

Eliminar todos los reactivos utilizados o no utilizados (distintos a las ampollas de API C Medium), así como los materiales de un solo uso contaminados siguiendo los procedimientos relacionados con los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de los residuos y efluentes que produce, según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación según las reglamentaciones aplicables.

BIOMERIEUX, el logo azul, API, ATB y **apiweb** son marcas utilizadas, depositadas, y/o registradas pertenecientes a bioMérieux SA o a una de sus filiales.

CLSI es una marca perteneciente a Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

ATCC es una marca perteneciente a American Type Culture Collection.

Las otras marcas y nombres de productos mencionados en este documento son marcas comerciales de sus respectivos propietarios.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Impreso en Francia

