

## Agar Mueller Hinton Con Glucosa y Azul de metileno (ref. 285-255)

REF 285-255      2  8

IVD Material para Diagnóstico *In Vitro*

### Presentación:

Medio de cultivo listo para su uso, estuche de 10 unidades, Placas de 90mm. (ref. 285-255).

### Composición (gramos / litro):

Extracto de carne	2.0
Hidrolizado ácido de caseína	17.5
Almidón soluble:	1.5
D- (+) Glucosa	20.0
Azul de Metileno	0.0005
Agar bacteriológico	17.0
pH final medio de cultivo listo para el uso	7.3 +/- 0.1

### Uso Previsto:

Medio de cultivo para el estudio de susceptibilidad de levaduras mediante difusión en agar.

### Descripción:

El Agar Mueller Hinton suplementado con 2% de glucosa y 0.5 ug/mL de azul de metileno, corresponde a la fórmula recomendada en el documento M44-A del CLSI, para el estudio de susceptibilidad de levaduras frente a antifúngicos mediante difusión en agar.

El estudio de la susceptibilidad del género *Candida* frente a los antifúngicos mediante difusión en agar utilizando discos o tabletas, ha presentado limitaciones debido a la difusión del antimicótico en el medio de cultivo, y además falta de correlación clínica. No obstante, las pruebas realizadas con discos de fluconazol (25µg) y de voriconazol (1 µg) en este medio de cultivo tienen una correlación satisfactoria. En consecuencia, durante el año 2003 el CLSI ha estandarizado la prueba de susceptibilidad por difusión para ambos antifúngicos publicando el documento definitivo M44-A

En esta fórmula, la glucosa proporciona una fuente de energía que facilita el desarrollo de las levaduras, y el

azul de metileno mejora la definición de los halos de inhibición.

### Materiales y Reactivos necesarios, pero no suministrados:

Sensidiscos de fluconazol (25µg) y voriconazol (1.0 µg)  
Suero fisiológico estéril.  
Estufa de cultivo

### PRECAUCIONES PARA SU USO ADECUADO:

- Material para uso diagnóstico IN VITRO.
- Material listo para ser usado. No requiere interfaz u otro producto sanitario para ser utilizado.
- No realizar intervenciones en el producto. La utilización según el uso previsto siguiendo las instrucciones que se indican mantiene las garantías.
- Uso sólo por parte de personal calificado. IVD diseñado para ser usado en laboratorios de microbiología clínica.
- No debe ser usado como materia prima para ninguna otra fabricación.
- No debe usarse pasado su fecha de expiración.
- No debe usarse si el empaque o el producto está deteriorado. Material garantizado solo con sus sellos intactos.
- No debe usarse si se observa contaminación bacteriana.
- No debe usarse si presenta signos de deshidratación, congelación o agrietamiento
- Ambientar la placa sin sello antes de su uso. No re sellar.
- El material utilizado debe descartarse de manera segura de acuerdo a las normativas de bioseguridad vigentes en el país
- Debe utilizarse según normas del CLSI. El uso bajo otras normas debe ser validado por el usuario.
- Este artículo ha sido calibrado para uso según recomienda CLSI en el documento M44-A.



### Conservación:

Conservado refrigerado entre 2º y 8º C es estable hasta la fecha de caducidad. El medio de cultivo se debe almacenar sellado y con la cubierta de la placa (tapa) hacia abajo.

### Muestras a cultivar:

Este medio de cultivo debe utilizarse con inóculos calibrados obtenidos a partir de cepas puras de *Candida sp.* aisladas sobre Agar Sabouraud dextrosa. Para preparar el inóculo, toque cinco colonias aisladas de un cultivo de 24 horas, y suspéndalas en suero fisiológico estéril, ajuste a una turbidez equivalente al standard McFarland 0.5. Se obtiene una suspensión equivalente a 1x10<sup>6</sup> a 5x10<sup>6</sup> UFC/mL

### Inoculación:

Sumergir una tórula estéril de algodón en la suspensión de levaduras, escurrir el exceso y sembrar toda la superficie del agar, rotando la placa tres veces para una distribución uniforme. Deje secar unos minutos hasta que se absorba el exceso de humedad. Aplique los discos presionando suavemente contra el agar, conserve una distancia de unos 6 cm entre los discos para obtener halos no confluentes.

### Incubación:

24 horas entre 35° C para *Cándida sp.* y 48 horas para *Cryptococcus sp.* Incubar hasta 48 horas si no hay desarrollo suficiente a las 24 horas. *Candida glabrata* y *Candida krusei* pueden requerir 48 horas de incubación.

### Lectura e interpretación de resultados:

Medir el diámetro de los halos de inhibición hasta el margen del desarrollo, sin considerar las micro colonias en los bordes o las colonias aisladas al interior del halo. Comparar los valores leídos con las correspondientes tablas de puntos de corte según CLSI, y determinar la categoría "Resistente" (R), "Sensibilidad Dosis Dependiente" (S-DD), o "Sensible" (S).

Puntos de corte para *Candida sp.* y su equivalencia en CIM, según documento M44-A del CLSI:

Antifúngico	Halo de Inhibición (mm)		
	R	S-DD	S
Fluconazol 25 µg	≤ 14	15-18	≥ 19
Voriconazol 1.0 µg	≤ 13	14-16	≥ 17
Caspofungina 5.0 µg	≤ 10*	-----	≥ 11

(R): resistente,

(S-DD): sensibilidad dosis dependiente,

(S): sensible

\* no sensible

Antifúngico	CIM µg/mL)		
	R	S-DD	S
Fluconazol 25 µg	≥ 64	16-32	≤ 8
Voriconazol 1.0 µg	≥ 4	2	≤ 1
Caspofungina 5.0 µg	≥ 2*	-----	≤ 2

(R): resistente,

(S-DD): sensibilidad dosis dependiente,

(S): sensible

\* no sensible

### Control de Calidad del Usuario:

El control de calidad de la performance se ajusta a los criterios de diseño y desarrollo del producto, y su resultado se declara en el Certificado de Análisis emitido para cada lote.

El usuario puede realizar control de calidad de acuerdo a los protocolos CLSI o según sus propios criterios. A modo de referencia puede utilizar la siguiente información según la norma CLSI M44-A

Medida del halo (mm) para cepas control:

Levadura	Fluconazol 25 µg	Voriconazol 1.0 µg	Posaconazol 5.0 µg
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	ND	16 - 25	23 - 31
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	22 - 33	28 - 37	25 - 36
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	28 - 39	31 - 42	24 - 34
<i>C. tropicalis</i> ATCC 050	26 - 37	ND	23 - 33

ND: no documentado.

Los usuarios son responsables de la frecuencia y de los alcances de sus controles de calidad.

### Limitaciones de Uso:

El Agar Mueller Hinton con glucosa y azul de metileno está desarrollado para las pruebas que se indican en este documento, calibradas según recomendaciones del CLSI. Cualquier otra variación de su uso es de responsabilidad del usuario.

### Certificados de Análisis:

Certificados de Análisis para cada lote pueden ser consultados por el cliente en el sitio web

[www.valtekdiagnostics.com](http://www.valtekdiagnostics.com)

### Eliminación de Desechos:

El usuario es responsable de la adecuada eliminación de los materiales para diagnóstico microbiológico estén utilizados o no, para lo que deberá estar en conocimiento cabal de la normativa local vigente respecto de la disposición de material infeccioso o potencialmente infeccioso. Cada laboratorio asume la responsabilidad de la gestión de sus desechos y efluentes, sea por cuenta propia o mediante terceros que garanticen el adecuado tratamiento de estos, y según lo determinen las reglamentaciones locales vigentes.

### Referencias:

1.- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2004. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeast. Approved standard M44-A. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, Pa.

Rev.2.: 01/2018 CIO