

# Procedimiento

**Notas importantes sobre la obtención de muestras:** La obtención de muestras plantea una gran incertidumbre en el uso de este dispositivo.

**UÑAS:** a menudo, obtener material viable de uñas infectadas resulta difícil porque los organismos vivos se encuentran muy por debajo de la propia uña. Para obtener los mejores resultados, corte las uñas en fragmentos pequeños.

**PELO:** las muestras deben sujetarse del extremo no infectado y se deben cortar varias (3-6) piezas pequeñas, de aproximadamente 2 cm de largo, de la parte infectada para la inoculación en el medio.

**PIEL:** las raspaduras deben tomarse con una herramienta de inoculación que se haya humedecido con el medio o una hoja afilada del borde exterior de una lesión activa. El líquido vesicular no es aceptable para el cultivo de dermatofitos. Si están vesiculadas, las raspaduras de la piel deben obtenerse de la superficie.

## Materiales suministrados

- Prueba(s) con InTray DM-FungID

## Materiales necesarios pero no suministrados

- Herramienta de inoculación estéril (por ejemplo, hisopo de algodón/pinzas/hoja de escapollo)
- Estufa de incubación de laboratorio capaz de incubar a 18-30 °C

## Preparación de la muestra:

Utilice una técnica aséptica durante la obtención y manipulación de muestras. Elimine cualquier resto de jabón de la zona donde se vayan a tomar las muestras. Limpie la zona con un alcohol al 70 % y deje que se seque al aire.

## Obtención de la muestra:

InTray DM-FungID está diseñado para cultivar muestras de cabello, piel y uñas (por ejemplo, recortes/raspaduras). Todas las muestras deben manipularse de acuerdo con las directrices sobre aislamiento de materiales infecciosos de los CDC: [cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/isolation](https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/isolation)

## 1 Prepare InTray

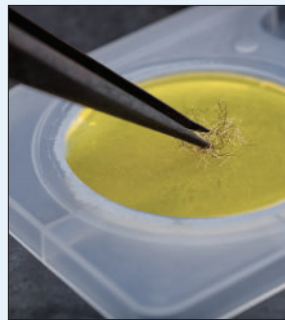


Etiquete inmediatamente la placa con la información del paciente o de la muestra y con la fecha. Tire hacia atrás de la esquina inferior derecha, junto a la ventana transparente de la etiqueta de la placa, para que el sello protector quede completamente visible.

Retire el sello protector tirando de la pestaña. Deseche el sello protector.

**NO RETIRE NI ALTERE LA TIRA BLANCA DEL FILTRO QUE HAY SOBRE EL ORIFICIO DE VENTILACIÓN.**

## 2 Inocule la muestra



Inocule la muestra en la superficie central del medio. Para la inoculación de sólidos o raspaduras, se puede utilizar un asa bacteriológica estéril que se haya humedecido al tocar la superficie del medio.

Vuelva a sellar toda la superficie alrededor de la placa para asegurar un sellado completo presionando los bordes de la etiqueta contra la placa de plástico

**NO CUBRA LA VENTANA DE VISUALIZACIÓN.** Volver a sellar completamente evita la deshidratación.

## Incubación

Incuba las placas inoculadas hasta 14 días a 18-30 °C, en la oscuridad. Observe las placas diariamente en busca de cambios de color a través de la ventana de visualización transparente.

## Control de calidad

Este producto ha sido probado y cumple la normativa aprobada por el CLSI (anteriormente NCCLS) para medios de cultivo preparados para uso comercial (M22-A3). Durante la fabricación se realizan pruebas de control de calidad en cada lote de InTray DM-FungID. La capacidad del medio de cultivo para lograr la proliferación y demostrar la morfología y las reacciones bioquímicas previstas se verifica en cada lote. Consulte el certificado de análisis para obtener información específica sobre el lote.

## Cepas recomendadas para las pruebas de control de calidad de InTray DM-FungID

Cepa de la prueba	ATCC®	Resultado esperado
<i>T. mentagrophytes</i>	9533	Proliferación
<i>T. rubrum</i>	28188	Proliferación
<i>M. gypseum</i>	14683	Proliferación
<i>A. brasiliensis</i>	16404	Inhibición significativa
<i>S. aureus</i>	25923	Inhibición significativa
<i>E. coli</i>	25922	Inhibición significativa
<i>C. albicans</i>	60193	Inhibición significativa

# Análisis de los resultados

## Evaluación

Observe el medio para identificar la proliferación y el cambio de color. Sin abrir el InTray DM-FungID, coloque la placa sin abrir bajo una lente del microscopio para ver los organismos utilizando el objetivo de 10x aumentos (potencia 100x) y observe las distintas estructuras micóticas (es decir, hifas, micro y macroconidias). Las placas SOLAMENTE se deben usar con el objetivo de 10x aumentos. No se precisa tinción. Consulte la tabla de identificación que se ofrece a continuación.

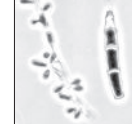
**Proliferación mixta:** los dermatofitos y los saprofitos (contaminantes) proliferarán en la misma placa. Los dermatofitos empezarán a proliferar primero y harán que los medios adquieran un color rojo alrededor de la colonia. Los saprofitos proliferarán, pero no habrá cambio de color alrededor de la colonia hasta que la colonia madure. El color de la proliferación de la colonia cambiará de blanco a amarillo, negro, marrón o verde.

**Positivos:** si, en un plazo de 1-14 días, el color del medio cambia a rojo en la ubicación de la muestra y proliferan colonias blanquecinas, InTray DM-FungID es posiblemente positivo.

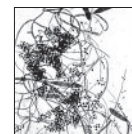
**Negativos:** las placas que no muestran proliferación de colonias o cambio de color 14 días después de la inoculación son posiblemente negativas.

## Identificación de dermatofitos

Esta es una selección de los organismos que se encuentran habitualmente. Consulte la tabla de pared de DM (N.º cat. 10-000-004, 10-000-005; también disponible en línea en la dirección [biomeddiagnostics.com](https://www.biomeddiagnostics.com)) para obtener una selección más detallada, y las referencias que se indican a continuación, así como otras referencias genéricas de micología y microbiología.



**Trichophyton rubrum** Hifas septadas. Macroconidias: (4-6 x 15-30 µm) abundantes, raras o ausentes, sin embargo pueden ser largas, estrechas, de paredes finas y con lados paralelos, 2-8 células, pueden formarse en los extremos individualmente o formando grupos. Microconidias: (2-3 x 3-5 µm) laterales, con forma de lágrima, se forman sobre macroconidias.



**Trichophyton mentagrophytes** Hifas septadas. Macroconidias: (4-8 x 20-50 µm) ocasionalmente presentes, con forma de cigarrillo, paredes delgadas, anejos estrechos a hifas septadas, 1-6 células, se encuentran en cultivos jóvenes de 5-10 días de antigüedad. Microconidias: suelen estar presentes en cultivos polvorientos, muy redondas, agrupadas en conidióforos ramificados; en cultivos esponjosos, más pequeños, en menor número, en forma de lágrima y se confunden fácilmente con las de *T. rubrum*.

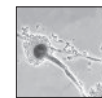


**Epidermophyton floccosum** Hifas septadas. Macroconidias: (7-12 x 20-40 µm) con paredes lisas, gruesas y finas, con forma de bastón y extremos redondeados, de dos a seis células, en formación individuales o agrupadas. Microconidias: ninguna.

## Identificación de saprofitos (contaminantes)



Las hifas **Alternaria sp.** son septadas y oscuras. Los conidióforos son septados, de longitud variable y a veces ramificados. Las macroconidias son grandes (7-10 por 23-24 µm), marrones, tienen estaciones transversales y longitudinales, y se encuentran solas o formando cadenas. Generalmente son redondas en el extremo más cercano al conidióforo, produciendo una forma de bastón. Día 10-14: proliferación de colonias sin cambio de color inicial. Morfología de las colonias: formación de colonias lanosas de color blanco grisáceo 10 a 14 días después de la inoculación, que más tarde adquieren un color negro/marrón verdoso con un borde claro. Pueden terminar recubiertas de hifas aéreas cortas de color gris. El reverso es de color negro. El medio cambiará a rosa cuando la colonia cambie de color.



**Aspergillus sp.** Morfología microscópica – Hifas septadas (2,5-8 µm de diámetro); un conidióforo sin ramificación surge de una célula de pie especializada. El conidióforo está agrandado en la punta, formando una vesícula hinchada cubierta, completa o parcialmente, por fiálides con forma de matraz. Las fiálides producen cadenas de conidias, en su mayoría redondas, a veces ásperas (2-5 µm de diámetro). Día 10-14: proliferación de colonias sin cambio de color inicial. Formación de colonias blancas algodonosas entre 10 y 14 días después de la inoculación que más tarde se vuelven amarillas, verdes, negras o marrones. El reverso es blanco, dorado o marrón. El medio cambiará a rojo cuando la colonia cambie de color.



**Penicillium sp.** Morfología microscópica – Hifas septadas (1,5-5 µm de diámetro) con conidióforos ramificados que tienen ramas secundarias conocidas como métulas. En las métulas se encuentran las fiálides con forma de matraz que llevan cadenas sin ramificar de conidias suaves o ásperas (2,5-5 µm de diámetro). Toda la estructura forma la característica apariencia de "penicilos" o "brocha". Día 10-14: proliferación de colonias sin cambio de color inicial. Morfología de las colonias: la superficie es al principio blanca, y luego se va volviendo muy polvorienta, de color verde azulado con un borde blanco. Algunas especies menos comunes presentan otro color. El reverso suele ser blanco pero puede ser rojo o marrón. El medio DM-FungID cambiará a rosa/rojo cuando la colonia cambie de color.

