BECTON DICKINSON DE COLOMBIA LTDA

FICHA TÉCNICA DE PRODUCTO

CATALOGO BD: 448316	TITULO: BD Phoenix Yeast ID		
REGISTRO SANITARIO: COLOMBIA: INVIMA 2021RD-0002109-R1 VIGENCIA: 11/10/2031 RIESGO: II	PRESENTACION: Caja x 25		
TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO: 15-25 °C			

USO

El sistema de Microbiología automatizado BD Phoenix™ está diseñado para la identificación (ID) de levaduras y organismos levaduriformes.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

Un máximo de 100 pruebas pueden ser realizadas en el equipo Phoenix usando al tiempo los paneles Phoenix Yeast ID. Una bandeja sellada y autoinoculada de poliestireno con 136 micro-pozos con reactivos secos, sirve para la identificación en el sistema Phoenix. El panel Phoenix Yeast ID se compone de 51 micropocillos destinados para la identificación de levaduras donde 47 pozos contienen sustratos bioquímicos secos y tres pozos son de control. Los Paneles Phoenix Yeast ID se inoculan con una densidad del organismo de McFarland 02:00 (McFarland de 02:00-02:40 es aceptable). Las suspensiones del organismo deben prepararse sólo con el nefelómetro BD ™ PhoenixSpec. Una vez inoculados, los paneles se colocan en el instrumento y se incuban de forma continua a 35 °C. Los paneles en el instrumento son leídos cada 20 minutos: a los 20 minutos, a los 40 minutos y a la hora hasta 16 horas si es necesario. Los Paneles Phoenix Yeast ID se leen sólo por el instrumento, no pueden ser leídos manualmente.

Identificación del organismo

La parte de ID del panel Phoenix utiliza una serie pruebas convencionales cromogénicas, fluorogénicas y bioquímicas para determinar la identificación del microrganismo. La prueba está basada en el crecimiento y la utilización de diferentes sustratos enzimáticos. La técnica se fundamenta en la utilización y en

la degradación del sustrato por el organismo, reacción detectada por varios sistemas de indicadores. La producción de ácido se indica por un cambio en el indicador de color rojo de fenol cuando un aislado es capaz de utilizar el sustrato de hidrato de carbono
Los sustratos cromogénicos producen un color amarillo por hidrólisis enzimática de los compuestos ya sea de p-nitrofenilo o p - nitroanilida. La hidrólisis enzimática de sustratos fluorogénicos resultados en la liberación de un derivado de cumarina fluorescente y cuando el organismo hidroliza la fuente de carbono la reacción se evidencia cuando se reduce el indicador a base de resazurina. Además, hay otras pruebas que detectan la capacidad de un organismo para hidrolizar, degradar, reducir, o utilizar de otro modo el sustrato. Una lista completa de los sustratos que comprende la prueba se puede encontrar en el Manual del usuario BD Phoenix (Apéndice F). Las diferentes reacciones empleadas por la utilización de diversos sustratos y los principios empleados en las reacciones del Panel Phoenix Yeast ID se describen en el Manual del usuario BD Phoenix™ (Apéndice F). Los componentes necesarios para la identificación de la levadura en el sistema Phoenix son:

1) Paneles Phoenix Yeast ID, 2) Phoenix ID Caldo, 3) Estación Inoculación Phoenix, 4) Phoenix Carrier Panel, 5) BD PhoenixSpec Nefelómetro 6) Otros suministros de laboratorio (que se enumeran en Materiales necesarios, pero no suministrados). Antes de la inoculación, el panel Phoenix se coloca en la estación de inoculación con los puertos de llenado hacia la parte superior. El inóculo se agrega manualmente al puerto ID. El flujo del inóculo es en dirección hacia abajo del panel en forma de serpentina, los pozos iniciales del panel se llenan de líquido y el exceso avanza hacia la almohadilla. Los tapones de plástico se insertan manualmente en los puertos de llenado. Un orificio de admisión de aire se encuentra en la zona ubicada entre los puertos de llenado del panel para asegurar la tensión de oxígeno adecuada para el éxito de la prueba.

INGREDIENTES

Para obtener una lista de los sustratos bioquímicos presentes en el panel Phoenix Yeast ID consulte el Manual del usuario BD Phoenix (Apéndice F, "Lista de Reactivos y principios empleados en el Sistema Phoenix").

PRECAUCIONES

Para uso de diagnóstico in vitro. Todas las muestras de pacientes y los cultivos microbianos son potencialmente infecciosos y deben ser tratados con las precauciones universales. Por favor refiérase al manual del CDC y Manual de Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos, así como literatura recomendada. Antes de desecharlas, esterilizar los recipientes de las muestras y otros materiales contaminados por autoclave. Los paneles, una vez inoculados, deben manipularse con cuidado hasta que se coloquen en el instrumento.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Los paneles Yeast ID son paquetes individuales que deben almacenarse sin abrir a temperatura ambiente (15 a 25 °C). No refrigerar o congelar. Inspeccione visualmente el paquete si hay agujeros o grietas en el paquete de papel de aluminio. No utilizar si el envase o el panel parece estar dañado. Si se almacena como se recomienda, los paneles mantienen su reactividad esperada Hasta la fecha de caducidad.

RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

El sistema Phoenix no es para uso directo con muestras clínicas. Solamente para aislados de cultivo fresco y puro. El aislado a testear debe ser un cultivo puro. Se recomiendan cultivos puros y frescos 18 a 48 horas de vida de la levadura. Los aislamientos deben ser evaluados por una tinción de Gram para asegurar la selección adecuada del tipo de panel Phoenix. El seleccionar el panel inadecuado da lugar a obtener resultados erróneos y poco confiables.
Para la prueba se deben emplear aislados a partir de Sabouraud Dextrosa Agar. Otros medios recomendados para la prueba incluyen tripticasa™ agar de soja con 5 % de sangre de oveja (TSAII), Sabouraud Dextrosa de Emmons, Sabouraud Infusión de Cerebro Corazón agar, el agar Columbia con sangre de carnero al 5% y agar chocolate.
Utilizar hisopos, aplicadores sin algodón, para preparar las suspensiones de inóculo. Algunos hisopos de poliéster pueden causar problemas con la inoculación de los paneles.
La utilidad del sistema Phoenix o cualquier otro procedimiento de diagnóstico que se realiza en muestras clínicas está directamente influenciada por la calidad de los mismos especímenes. Los laboratorios recomiendan emplear métodos descritos en el Manual de Microbiología Clínica para la recogida de muestras, el transporte y la siembra en medio de aislamiento primario.
Debido a las variaciones en las concentraciones de inóculo, se requiere el uso del BD nefelómetro PhoenixSpec para ajustar el inóculo de la prueba.
Se recomienda comprobar la pureza del inóculo. Las instrucciones para el control de pureza se pueden encontrar en el Manual del usuario.

MATERIALES

Materiales suministrados

- Paneles de Phoenix
- Phoenix ID Caldo
- Estación Inoculación Phoenix
- Phoenix Transporte Caddy
- BD ™ Nefelómetro PhoenixSpec

Materiales necesarios no suministrados
- Reactivos de tinción de Gram
- Hisopos sin algodón estériles
- Medios de Cultivo
- Incubadoras
- Recipiente desechable Biohazard
- Marcadores, etc

PROCEDIMIENTO

Nota: El instrumento Phoenix debe estar siempre encendido. Si no es así, encender el instrumento y dejar que transcurran 2 horas para que el instrumento se caliente antes de cargar los paneles en el sistema. Preparar el instrumento Phoenix para recibir los paneles como se describe en el Manual del usuario del sistema BD Phoenix.
Se debe tener cuidado en el manejo de los paneles Phoenix. Se deben tomar los paneles por los lados para evitar marcas, manchas u oscureciendo de la parte anterior del panel, ya que es por esta cara que se realiza la lectura de las pruebas. No colocar etiquetas de códigos de barras que cubran pocillos de lectura ni el número de secuencia del panel.

Panel Phoenix Yeast ID

Paneles Phoenix Yeast ID se emplean para la identificación de las levaduras y organismos levaduriformes.

Caldo y preparación del panel

Prepare los paneles y el caldo ID como se describe en el manual del usuario.
El inóculo del ensayo debe prepararse a partir colonias aisladas de uno de los medios recomendados y que tengan una morfología similar. Deben ser cultivos frescos de 18 a 48 horas de vida y la suspensión en el caldo de Phoenix ID debe prepararse con hisopo estéril o un aplicador de madera.
Se recomiendan los hisopos sin algodón o de madera, no utilizar hisopos de poliéster ya que pueden causar problemas con la inoculación de los paneles.

Montaje del panel

Confirmar con la tinción de Gram la morfología del aislado antes de proceder con la preparación del inóculo. Examine la bolsa, no utilizar el panel si la bolsa está perforada o abierta. Retire el panel de la bolsa. Deseche el desecante. No utilice el panel si no hay desecante.
Nota: Los paneles deben ser utilizadas dentro de 2 horas después de haber sido retirado de la bolsa.

Coloque los paneles en la estación de inoculación con los puertos en la parte superior y la almohadilla en la parte inferior
Etiquetar el tubo de caldo de identificación Phoenix con el número de muestra del paciente. Utilizando una técnica aséptica, tome las colonias de la misma morfología con la punta de un hisopo sin algodón estéril (no use el hisopo de poliéster) o un aplicador de madera sin algodón a partir de un aislado de uno de los medios recomendados. Véase la Tabla C. Suspender las colonias en el caldo de Phoenix ID. Tapar el tubo y agitar 5 segundos. Dejar reposar el caldo aproximadamente 10 segundos para que las burbujas de aire desaparezcan. Tocar el tubo suavemente para ayudar a la eliminación de las burbujas.

Insertar el tubo en el BD PhoenixSpec Nefelómetro. Asegúrese de que el tubo se introduce correctamente. (Consular el manual del producto BD PhoenixSpec instrucciones de uso correcto y verificación de la calibración). Lea el tubo para confirmar McFarland 02:00 (2:00-2:40 es aceptable). Si la densidad de organismos es < 2,00, se puede añadir más colonias aisladas, agitar la muestra y volver a leer para confirmar la densidad correcta en McFarland. Si la densidad de organismos excede 02:40 McFarland, siga los pasos que se detallan a continuación para diluir el caldo. Es muy importante indicar con precisión el nivel del líquido en el tubo ya que se necesita este volumen para llenar adecuadamente los pocillos en el panel.

a) Con un marcador, marcar el nivel del caldo en el tubo Phoenix ID.
b) Con una pipeta estéril, añadir asépticamente caldo Phoenix ID. Sólo el caldo Phoenix puede ser utilizado para diluir el inóculo.
c) Agitar el tubo y dejar reposar durante 10 segundos.
d) Colocar el tubo en el Nefelómetro y vuelva a medir la turbidez de la suspensión. Si la lectura es superior a 2:40, repetir los pasos b a d. Si la lectura es aceptable, ir al paso e.
e) Con una pipeta estéril, eliminar asépticamente el exceso de caldo al nivel original indicada por la marca en el tubo creado en el paso a.
Retire el exceso de caldo para evitar el sobrellenado del panel. Además, no quitar demasiado caldo, el caldo no puede ser insuficiente para llenar el panel.
f) El caldo ahora puede ser utilizado para inocular el panel de Phoenix Yeast ID.
Nota: La suspensión bacteriana estandarizada en el caldo ID debe ser utilizada dentro de los 60 minutos siguientes de preparación.
Verter el tubo identificación con el inóculo en el puerto de llenado en el lado identificación del panel. Deje que el líquido atraviese por las vías antes de mover el panel.
g) Antes de cerrar el panel, compruebe si hay gotas residuales de inóculo en el borde de los orificios de llenado. Si una gota está presente, retire la gotita con material absorbente y desechar este material en bolsa roja para material contaminado. Asegúrese de ajustar bien los tapones en los puertos.

h) Inspeccione visualmente los paneles para asegurarse de que cada uno de los pozos está lleno. Mirar ambos lados del panel. Asegúrese de que los pozos no están demasiado llenos. Si alguno de los pozos está vacío o está demasiado lleno, inocular un nuevo panel.
Nota: Los paneles deben ser cargados en el instrumento dentro de los 30 minutos después de su inoculación. Los paneles deben ser mantenidos en la estación de inoculación después de la inoculación hasta que el exceso de líquido sea absorbido completamente por la almohadilla. Evite golpear o sacudir el panel o dejarlo caer al suelo.

Chequear la pureza del inóculo

1. Utilizando un asa estéril, tomar una muestra del caldo de identificación Phoenix después de la inoculación del panel.
2. Inocular una placa de agar (adecuado para levaduras) para realizar un control de pureza.
3. Deseche el tubo de caldo(s) y la tapa(s) en un recipiente de desechos de riesgo biológico.
4. Incubar la placa durante 24-48 horas a 35 °C bajo condiciones apropiadas.

La suspensión del organismo estandarizada en caldo ID Phoenix debe ser utilizada dentro de los 60 minutos después de su preparación. Los paneles deben ser cargados en el instrumento Phoenix dentro de los 30 minutos siguientes a su inoculación. Para el ingreso de paneles al sistema Phoenix consultar el manual del usuario, en el proceso de ingreso de paneles al equipo se debe seleccionar el tipo de medio a partir del cual se realizó el aislamiento.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

A fin de garantizar un procedimiento de configuración apropiado y un rendimiento aceptable del sistema con paneles Phoenix Yeast ID, se recomienda testar los siguientes microorganismos (como se describe en el Manual del usuario del sistema BD Phoenix). Consulte la Ficha Técnica que acompaña a los paneles Phoenix donde se encuentra que resultados esperar cuando se testean organismos de control de calidad.

Identificación (paneles de levadura Yeast ID):

Candida albicans ATCC 24433 ™
Candida parapsilosis ATCC 22019 ™

Para obtener resultados más fiables, se recomienda que los organismos de control de calidad se subcultiven al menos dos veces en dos días consecutivos en Sabouraud dextrosa agar TSA o con 5% de sangre de oveja antes de su uso en

el sistema Phoenix. Si se obtienen resultados discrepantes, revise el procedimiento de la prueba, así como confirmar la pureza de la cepa de control de calidad utilizada. Resultados inaceptables de control de calidad están documentadas como " Fail" y los resultados del control de calidad aceptables se documentan como " Pass " en el informe de control de calidad.

RESULTADOS

La identificación del organismo aparecerá en el Informe con un porcentaje de probabilidad de acuerdo con la base de datos y en el perfil de reacción de sustratos. Los resultados de cada sustrato aparecerán +, -, V o X.

Mensajes especiales aparecen cuando el sistema detecta en los resultados de aislamientos de especial interés clínico. Más información sobre los resultados obtenidos del Sistema Phoenix se encuentra en el Manual del usuario del sistema BD Phoenix.
Los mensajes de error pueden aparecer si el sistema detecta algo inesperado debido al procedimiento inadecuado o mal funcionamiento del instrumento. Para obtener una lista completa de códigos de error y su significado, consulte el Manual del usuario del sistema BD Phoenix, en la lista de errores y su significado.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Se requiere la prueba de tinción de Gram para la selección del apropiado tipo de panel Phoenix. La identificación exacta no puede hacerse sin esta prueba.
Utilice sólo colonias de levaduras bien aisladas de uno de los medio de aislamiento primario recomendados. El uso de colonias mixtas podría resultar en la identificación inexacta. La suspensión debe ser equivalente a un estándar McFarland 2:00-2:40 y debe prepararse únicamente con el BD PhoenixSpec Nefelómetro. El uso de métodos alternativos para la preparación de la suspensión puede causar una identificación errónea. Los paneles Phoenix pueden ser leídos sólo por el instrumento Phoenix. La interpretación visual de los paneles de Phoenix no es posible. Cualquier intento de interpretar manualmente resultados del panel puede dar lugar a errores de identificación y/o interpretación.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El rendimiento de la identificación de levaduras con el sistema Phoenix se evaluó a través de estudios multicentricos utilizando colonias aisladas puras de Sabouraud Dextrosa Agar (SAB) y agar Trypticase soja con 5 % de sangre de oveja (TSA). Los resultados de los 519 (SAB) y 510 (TSA) se evaluaron y compararon frente a los métodos convencionales y moleculares.
El rendimiento de la identificación del panel Phoenix para la identificación se detalla a continuación:

	Medio	% Concordancia	% No concordancia	No ID
Género/especie	SBA	95.2%	3.8%	1.0%
	TSA	96.5%	2.7%	0.8%

Además, las pruebas se realizaron en múltiples sitios para demostrar la reproducibilidad. Los resultados de identificación obtenidos mediante el sistema Phoenix se compararon con los resultados esperados. Esta prueba arrojó un rendimiento y reproducibilidad de ≥ 95 % entre los sitios participantes

REFERENCIAS

1. Bronfenbrenner, J., and Schlesigner, M.J. 1918. A rapid method for the identification of bacteria fermenting carbohydrates, Am. J. Public Health. 8:922-923
2. Arnold, W.M., Jr., and Weaver, R.H. 1948. Quick microtechniques for identification of cultures - I. Indole production, J. Lab. Clin. Med. 33:1334-1337.
3. Bachmann, B., and Weaver, R.H. 1951. Rapid microtechnics for identification of cultures - V. Reduction of Nitrates to Nitrites, Am. J. Clin. Pathol. 21:195-196.
4. Hannan, J., and Weaver, R.H. 1948. Quick microtechniques for the identification of cultures - II. Fermentations, J. Lab. Clin. Med. 33:1338-1341.
5. Hartman, P.A. 1968. Paper strip and disc methods, p. 123-132. Miniaturized microbiological methods. Academic Press, New York.
6. Sanders, A.C., Faber, J.E., and Cook, T.M. 1957. A rapid method for the characterization of enteric pathogen using paper discs, Appl. Microbiol. 5:36-40.
7. Synder, M.L. 1954. Paper discs containing entire culture medium for the differentiation of bacteria, Pathol. Bacteriol. 67:217-226.
8. Soto, O.B. 1949. Fermentation reactions with dried paper discs containing carbohydrate and indicator, Puerto Rican J. Publ. Hlth. Trop. Med. 25:96-100.
9. Weaver, R.H. 1954. Quicker bacteriological results, Am. J. Med. Technol. 20:14-26.
10. Barnett, J.A., Payne, R.W. and Yarrow, D. 1990. Yeasts: characteristics and identification, 2nd Edition, Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
11. Larone, D. H. 2002. Medically important fungi, a guide to identification, 4th Edition, ASM Press, Washington, D.C.
12. de Hoog, G.S., Guarro, J., Gené, J. and Figueras, M.J. 2000. Atlas of clinical fungi, 2nd Edition, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, the Netherlands/Universita Rovira I Virgili, Reus, Spain.
13. Murray, Patrick R., et al. ed.2003. Manual of clinical microbiology, 8th Edition, ASM Press, Washington, D.C.



Distribuido en Colombia por:
Becton Dickinson de Colombia Ltda
Calle 97 # 23-1 A 23-99 Ed. Torre Proksol piso 9
Bogotá D.C. Colombia