



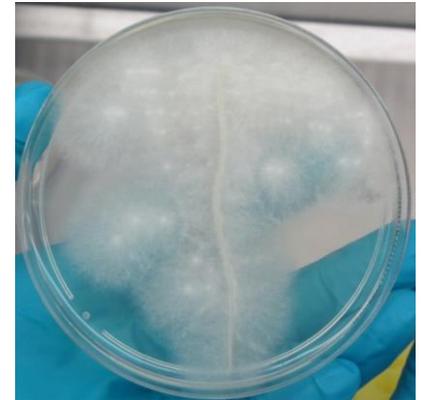
# PROTOCOLO HONGOS FILAMENTOSOS



**Warning: Document only for Training use.  
Does not replace the User Manual.**

PIONEERING DIAGNOSTICS

- 81 especies (incluyendo dermatofitos)
- Medio compatible: Agar patata dextrosa, Agar dextrosa Sabouraud, Agar dextrosa Sabouraud con gentamicina y cloranfenicol, Agar de soja Trypicase y Agar de soja Trypicase - Neutralizadores
- VITEK®MS Mould Kit



# REACTIVOS Y ACCESORIOS 1/3

- **VITEK® MS MOULD KIT Ref 415680**

O:

- **Microtubos incoloros de fondo redondo de 2 ml**
- **Etanol 70% (grado HPLC o ACS)**
- **Ácido fórmico 70% (grado HPLC o ACS)**
- **Acetonitrilo (grado HPLC o ACS)**
- **Medio de suspensión API o (agua desionizada) - ref 70700 (2ml)**
- **Hisopo de algodón estéril – Ref. 70610**
- **Microcentrífuga capaz de 10 000 -14000 g**
- **Cabina de bioseguridad**
- **Micropipeta y tips**
- **Vórtex**



- **VITEK® MS MOULD kit IVD – Ref. 415680**
- **El kit permite realizar aprox. 100 pruebas**
- **Destinado a ser utilizado para realizar la identificación de especies de mohos en el sistema VITEK® MS a partir de cultivos para aplicaciones clínicas e industriales.**



## ● VITEK® MS MOULD kit IVD – Ref. 415680

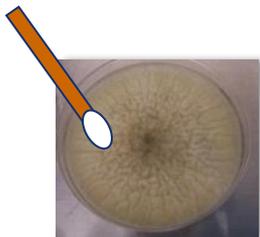
Componente	Cantidad
Tubos Eppendorf (2 mL)	100
70% Etanol	4 frascos
70% Ácido Fórmico	4 microtubos
Acetonitrilo	4 microtubos



# PROTOCOLO



Use campana de seguridad



1. Recoja un círculo de 1 a 2 cm de diámetro usando un hisopo húmedo



2. Suspnda la muestra en un tubo de 2ml con 900  $\mu$ l Etanol al 70%

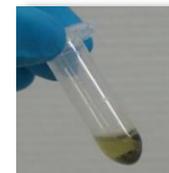


3. Mezcle bien (vortex)

## *Inactivación*



7. Centrifugación 2min 10000-14000g



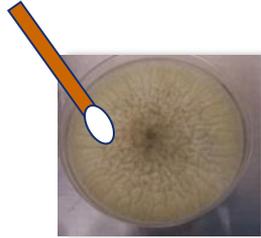
4. Centrifugación 2min 10000-14000g

8. Deposite 1 $\mu$ L del sobrenadante **DEJE SECAR**  
Adicione 1 $\mu$ L de matriz CHCA

6. Adicione 40 $\mu$ L de ácido fórmico al 70% y mezcle (vortex). Adicione 40 $\mu$ L Acetonitrilo y mezcle (vortex)

5. Descarte el sobrenadante usando una pipeta

## *Extracción*

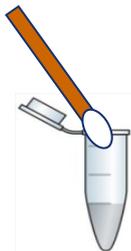


1. Recoja un círculo de 1 a 2 cm de diámetro usando un hisopo húmedo



- Este paso debe realizarse bajo cabina de seguridad.
- Moje el hisopo en medio de suspensión API o agua desionizada y luego exprímalo.
- El hisopo debe estar húmedo y no empapado.
- Frote alrededor de 1 a 2 cm (ni menos, ni más) y evite tomar agar.
- Tome todo el material disponible, esporas e hifas.

# PROTOKOLO PASO A PASO 2/8



2. Suspenda la muestra en un tubo de 2ml con 900  $\mu$ l Etanol al 70%



- Este paso debe realizarse bajo cabina de seguridad.
- Gire el hisopo en etanol y luego presiónelo contra la pared del tubo fuera de la suspensión.
- Repita de 3 a 5 veces hasta que el medio de suspensión se vuelva turbio.
- Si VITEK® MS MOLD kit IVD – Ref. 415680 - no se utiliza, un paso extra para obtener Etanol 70% :



2. Suspender en un tubo de 2 ml que contenga 300  $\mu$ l de etanol al 70 %



3. Agregar 0,9 ml de etanol y mezclar (vortex)

# PROTOCOLO PASO A PASO 3/8



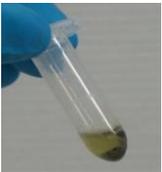
3. Mezcle bien (vortex)



- Este paso debe realizarse bajo cabina de seguridad.
- Vórtex

# PROTOCOLO PASO A PASO 4/8

**4.**  
**Centrifugación**  
**2min**  
**10000-14000g**

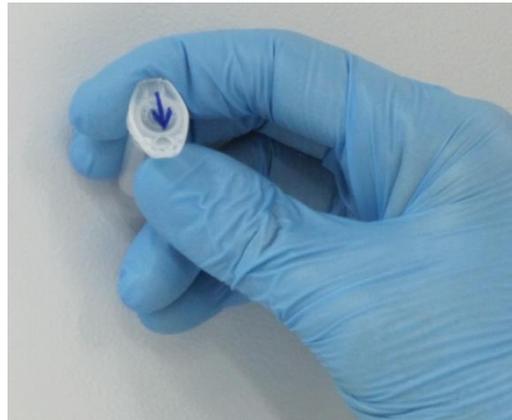


- La centrifugación requiere una microcentrífuga.
- Pellet podría ser invisible.
- Coloque siempre los tubos de la misma manera en la centrífuga para saber dónde se encuentra el sedimento (parte inferior del tubo, posición superior).



# PROTOCOLO PASO A PASO 5/8

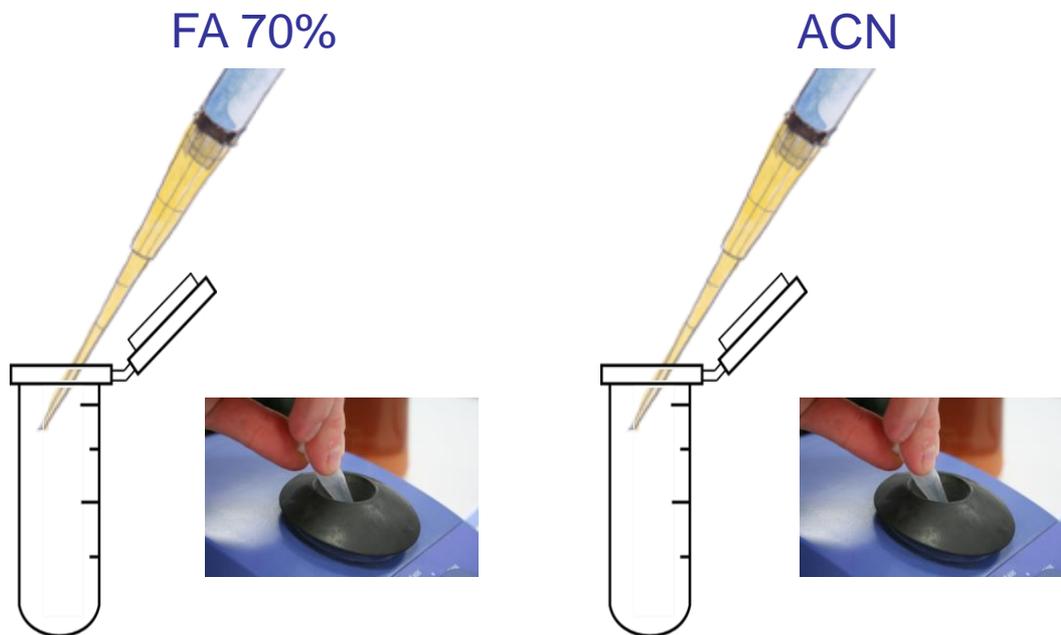
5. Descarte el sobrenadante usando una pipeta



- Este paso debe realizarse bajo cabina de seguridad.
- Pipetear en el lado opuesto del sedimento.
- Pipetear lentamente evitando perturbar el precipitado.
- Retire todo el etanol. Puede interferir con la extracción y diluir FA

# PROTOCOLO PASO A PASO 6/8

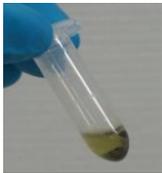
6. Adicione 40µL de ácido fórmico al 70% y mezcle (vortex). Adicione 40µL Acetonitrilo y mezcle (vortex)



- Si VITEK® MS MOLD kit IVD – Ref. 415680 no se utiliza, el ácido fórmico al 70 % debe prepararse todos los días por razones de estabilidad.
- Respetar el orden de los solventes (FA debe actuar primero para la eficiencia del acetonitrilo)
- Después de la adición de 40 µl de ácido fórmico, agitar en vórtex hasta la completa homogeneización del sedimento.
- Luego agregue 40 µl de acetonitrilo y agite

# PROTOCOLO PASO A PASO 7/8

**7.**  
**Centrifugación**  
**2min**  
**10000-14000g**



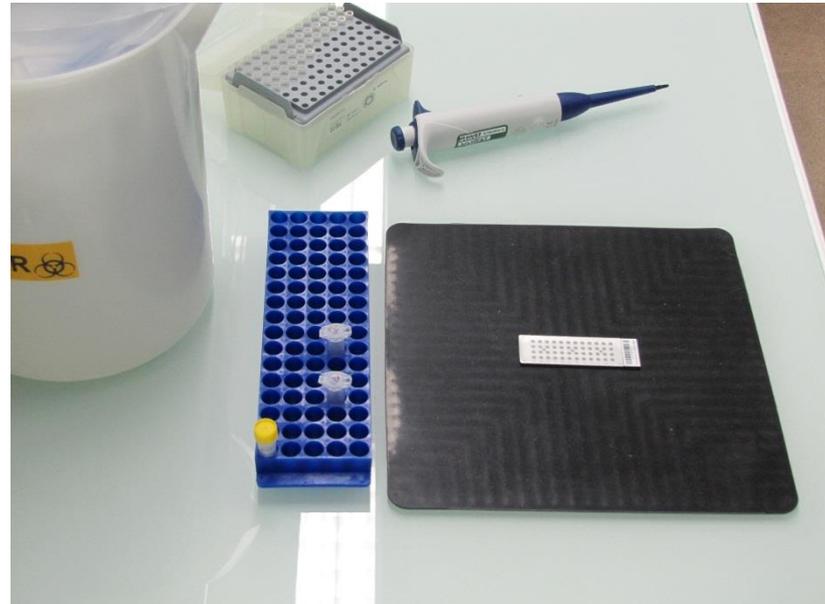
- La centrifugación requiere una microcentrífuga.
- Pellet podría ser invisible.
- Coloque siempre los tubos de la misma manera en la centrífuga para saber dónde se encuentra el sedimento (parte inferior del tubo, posición superior).



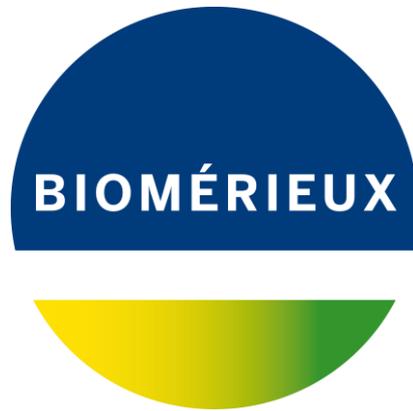
# PROTOCOLO PASO A PASO 8/8



8. Deposite 1 $\mu$ L del  
sobrenadante  
**DEJE SECAR**  
Adicione 1 $\mu$ L de matriz CHCA



- **Deposite el sobrenadante lo antes posible.**
- **No perturbe el pellet.**
- **Realice la adquisición dentro de las 72 hrs.**
- **No almacene el tubo de extracción.**



PIONEERING DIAGNOSTICS