



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

Tetrathionate Broth Base (base de caldo de tetrationato) con adición de solución de yodo-yoduro, se utiliza como medio de enriquecimiento selectivo para el aislamiento de *Salmonella* a partir de muestras fecales, urinarias, alimentarias y otros materiales de importancia sanitaria.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Antes de la inoculación, agregar 0,2 mL de solución de yoduro potásico por 10 mL de medio, preparada añadiendo 6,0 g de cristales de yodo y 5,0 g de yoduro potásico en 20,0 mL de agua purificada estéril.
2. Inocular muestras representativas con 0,1 mL de una suspensión McFarland 0,5 de los cultivos enumerados a continuación.
3. Realizar un subcultivo en **BBL Trypticase Soy Agar** with 5% Sheep Blood en la hora de inicio y después de 18 – 24 h de incubación a 35 ± 2 °C en atmósfera aerobia.
4. Incubar los subcultivos a 35 ± 2 °C durante 18 – 24 h en una atmósfera aerobia y examinar para detectar el crecimiento. Refrigerar las placas de la hora de inicio para comparar el crecimiento con el que se obtiene en las placas después de 24 h.
5. Resultados previstos

Organismos	ATCC	Crecimiento en agar de soja Trypticase con sangre de carnero al 5% después del subcultivo de caldo de tetrationato	
		Hora de inicio	24 h
* <i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> serotipo Typhimurium	14028	Crecimiento de medio a moderado	Crecimiento de moderado a denso
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Crecimiento de medio a moderado	Crecimiento escaso o nulo

*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar si los tubos presentan signos de deterioro (como se describe en "Deterioro del producto").
2. Examinar visualmente los tubos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Determinar el pH potenciométricamente a temperatura ambiente para verificar el cumplimiento de la especificación de $8,4 \pm 0,2$.
4. Incubar muestras representativas sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar si presentan contaminación microbiana después de 7 días.

INFORMACION SOBRE EL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

Tetrathionate Broth Base (base de caldo de tetrationato) con adición de solución de yodo-yoduro, se utiliza como medio de enriquecimiento selectivo para el aislamiento de *Salmonella* a partir de muestras fecales, urinarias, alimentarias y otros materiales de importancia sanitaria.

V RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El caldo de tetrationato fue descrito en un principio por Mueller, quien descubrió que el medio inhibía selectivamente los organismos coliformes, lo que por consiguiente permitía el crecimiento de los patógenos entéricos prácticamente sin restricción¹. Kauffman modificó el medio de Mueller y logró un mayor porcentaje de aislados^{2,3}. El medio ahora se formula según las especificaciones de American Public Health Association (APHA), AOAC International (AOAC) y Food and Drug Administration (FDA).

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Las sales biliares inhiben los microorganismos gram positivos. El tetrationato, que se forma en el medio mediante la adición de solución de yodo-yoduro, inhibe la flora intestinal normal de las muestras fecales⁴.

VII REACTIVOS

Tetrathionate Broth Base

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	2,5 g	Carbonato de calcio.....	10,0 g
Digerido péptico de tejido animal	2,5 g	Tiosulfato sódico.....	30,0 g
Sales biliares.....	1,0 g		

*Ajustada y/o complementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

Advertencias y precauciones: Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales

deben seguirse las "Precauciones estándar"⁵⁻⁸ y las directrices del centro. Esterilizar en autoclave los tubos preparados, los recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado antes de desecharlos.

Instrucciones de almacenamiento: Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 8 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que se vayan a utilizar. Reducir al mínimo la exposición a la luz. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos recomendados de incubación. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto: No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, precipitado, evaporación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden obtenerse mediante diversas técnicas. Las muestras deben obtenerse antes de administrar agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio. Para obtener más información, consultar los textos correspondientes⁹⁻¹².

IX PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Tetrathionate Broth Base

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis: Cumplir las técnicas asépticas.

Preparar la solución de yodo-yoduro añadiendo 6,0 g de cristales de yodo y 5,0 g de yoduro potásico en 20,0 mL de agua purificada estéril.

Inmediatamente antes de la inoculación, añadir 0,2 mL de solución de yodo-yoduro a cada tubo. Inocular con una torunda o asa llena de muestra o, donde lo permita el volumen del tubo, añadir heces, otra muestra sólida o líquida (aproximadamente 10% del volumen) y emulsionar con una aguja de inoculación si fuese necesario. Incubar los tubos durante 12 – 24 h a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia.

Control de calidad del usuario: Véase "Procedimientos de control de calidad".

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones pertinentes del CLSI y la normativa de la CLIA para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X RESULTADOS

Subcultivar en medios de placa selectivo y entérico de diferenciación para realizar investigaciones adicionales.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Los caldos de enriquecimiento no deben utilizarse como único medio de aislamiento. Deben utilizarse en conjunto con medios en placa selectivos y no selectivos para aumentar la probabilidad de aislar patógenos, en especial si pueden estar presentes en pequeñas cantidades. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados^{10,12,13-17}.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Tetrathionate Broth Base se analizan para determinar las características de rendimiento previstas. Se agrega solución de yoduro potásico al 2% a cada tubo. Los tubos se inoculan con 0,1 mL de suspensión al patrón de McFarland 0,5 de *S. typhimurium* ATCC 14028 y *E. coli* ATCC 25922 (los organismos se cultivan en caldo de soja **Trypticase** durante 4 h y se diluyen hasta una concentración de 1:100 antes de la inoculación) y luego se subcultivan en agar de soja **Trypticase** con sangre de carnero al 5% a la hora de inicio y después de 18 – 24 h de incubación a 35 ± 2 °C en atmósfera aerobia. Las placas se incuban de un día para otro a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia y se examinan para determinar el crecimiento. Los tubos subcultivados después de 24 h producen un crecimiento de medio a denso de *S. typhimurium*, mientras que *E. coli* es inhibido de manera parcial o completa.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
------------	-------------

298249	BBL Tetrathionate Broth Base, pqt. de 10 tubos de tamaño K, 10 mL
--------	---

XIV REFERENCIAS

1. Mueller, L. 1923. Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. C.R. Soc. Biol. (Paris), 89:434-437.
2. Kaufmann, F. 1930. Ein kombiniertes Anreicherungsverfahren für Typhus- und Paratyphusbazillen. Zentralbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten, Hygiene, Abteilung I, Original, 113:148-152.
3. Kaufmann, F. 1935. Weitere Erfahrungen mit den kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonellabazillen. Z. Hygiene, Infektionskrankheiten, 117:26-32.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
6. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.

7. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
8. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
9. Isenberg, H.D., F.D. Schoenknecht, and A. von Graevenitz. 1979. Cumitech 9, Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating ed., S.J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby Company, St. Louis.
11. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1999. Specimen collection, transport, and storage, p. 33-63. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification p. 442-458. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Downes and Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
14. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2001. The U.S. pharmacopeia 25/The national formulary 20-2002. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville, Md.
15. Cunniff, P. (ed.). 1995. Official methods of analysis of AOAC International, 16th ed. AOAC International, Arlington, Va.
16. U.S. Food and Drug Administration. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, Md.
17. Bopp, C.A., F.W. Brenner, J.G. Wells, and N.A. Strockbine. 1999. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*, p. 459-474. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.



Becton, Dickinson and Company
 7 Loveton Circle
 Sparks, MD 21152 USA
 800-638-8663
www.bd.com/ds



Benex Limited
 Pottery Road, Dun Laoghaire
 Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, BBL and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD