

**PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD****I INTRODUCCION**

Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum (caldo **Trichosel** modificado, con 5% de suero de caballo) se utiliza para el aislamiento y el cultivo de especies de *Trichomonas*.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Para *T. vaginalis*, inocular tubos directamente de un cultivo puro.
 - b. Para todos los otros organismos, inocular 1 µL (0,001 mL) procedente de un cultivo de 4 – 5 h de caldo de cultivo **Trypticase** Soy Broth (TSB) diluido para obtener 10^6 – 10^7 UFC/mL.
 - c. Incubar a 35 ± 2 °C durante 48 h en condiciones atmosféricas apropiadas.
 - d. Incluir tubos de un lote anteriormente analizado de TSB como controles no selectivos.
2. Examinar si los tubos presentan crecimiento de *T. vaginalis*. Después de 48 h de incubación, realizar una preparación húmeda desde el tubo de *Trichomonas* y examinar microscópicamente a baja potencia para detectar la presencia de protozoos flagelados. En caso de resultado negativo, incubar nuevamente durante 24 h más a 35 ± 2 °C y volver a examinar.
3. Resultados previstos

Organismos	ATCC	Recuperación
<i>Candida albicans</i>	10231	Crecimiento de mediano a denso
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Inhibición (parcial a completa)
* <i>Trichomonas vaginalis</i>	30001	Crecimiento de moderado a denso

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

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos como se describe en la sección "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 $6,0 \pm 0,2$.
4. Incubar tubos representativas no inoculados a $30 - 35$ °C y $20 - 25$ °C durante 72 h y examinar para detectar contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO**IV USO PREVISTO**

Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum (caldo **Trichosel** modificado, con 5% de suero de caballo) se utiliza para el aislamiento y el cultivo de especies de *Trichomonas*.

V RESUMEN Y EXPLICACIÓN

BBL Trichosel Broth, modificado, con 5% de suero de caballo es una modificación de Simplified **Trypticase** Serum (STS) Medium of Kupferberg et al. para el cultivo de *Trichomonas* spp¹. La fórmula clásica se ha modificado añadiendo extracto de carne, suero de caballo y una mayor cantidad de extracto de levadura para mejorar el rendimiento. El cloranfenicol, un antibiótico relativamente estable, sustituye a la penicilina y a la estreptomina recomendadas para añadir a la base de STS.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

BBL Trichosel Broth, modificado, con 5% de suero de caballo, contiene peptona de caseína, cisteína, extracto de carne y extracto de levadura como fuentes de aminoácidos, nitrógeno, azufre, carbono, vitaminas y elementos traza. La maltosa es una fuente de energía para el metabolismo de los microorganismos, incluido *Trichomonas* spp. El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro que inhibe una amplia variedad de bacterias gram positivas y gram negativas. El suero de caballo contiene factores de crecimiento necesarios para *Trichomonas* spp.

VII REACTIVOS**BBL Trichosel Broth, modificado, con 5% de suero de caballo**

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	12,0 g	Agar	1,0 g
Extracto de carne bovina	2,0 g	Cloranfenicol	0,1 g
Extracto de levadura	5,0 g	Azul de metileno	3,0 mg
Clorhidrato de L-cisteína	1,0 g	Suero de caballo	5%
Maltosa	2,0 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"²⁻⁵ y las directrices del centro. Antes de desecharlos, esterilizar en autoclave los recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado.

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 manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes^{6,7}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Se deben adoptar las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: BBL Trichosel Broth, modificado, con 5% de suero de caballo

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.

Inocular las muestras en las que se sospeche la presencia de organismos *Trichomonas* en el medio de caldo con torundas que contengan la muestra o mediante métodos alternativos, según proceda. Incubar los tubos a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia. Tras 48 h y de nuevo tras 5 días de incubación, realizar una preparación húmeda del caldo y examinar microscópicamente a baja potencia para detectar la presencia de protozoos flagelados.

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

Si se ha producido el crecimiento de *Trichomonas* spp., se observarán organismos de morfología típica en el medio de caldo cuando se examine una alícuota microscópicamente con bajo aumento.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Los agentes de los medios selectivos pueden inhibir algunas cepas de las especies deseadas o permitir el crecimiento de una especie que supuestamente debían inhibir, en especial si la especie está presente en grandes cantidades en la muestra.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

En un estudio realizado por Dawson et al.⁸, se compararon seis métodos en lo que respecta a su capacidad de detectar *Trichomonas vaginalis* en 214 mujeres adolescentes sexualmente activas. Los seis métodos que se emplearon fueron los siguientes: Cultivo de caldo BBL Trichosel Broth, cultivo PEM-T (HDC Corp.), preparación húmeda salina, colorante naranja de acridina, colorante Diff-Quik (Dade) y frotis Papanicolau. De las 214 muestras examinadas para la detección de *T. vaginalis*, 25% fueron positivas mediante al menos uno de los métodos examinados.

Los valores predictivos positivos y negativos (VPN) y de sensibilidad de los diferentes métodos fueron los siguientes:

	Cultivo Trichosel	Cultivo PEM-T	Naranja de acridina	Diff-Quik	Prep. húmeda	Frotis PAP
Sensibilidad	73,1%	40,5%	82,6%	78,3%	61,5%	65,8%
VDN	91,5%	84,1%	94,7%	93,4%	88,0%	86,7%

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat. **Descripción**

298323 BBL Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum, pqt. de 10 tubos

XIV REFERENCIAS

1. Kupferberg, A.B., G. Johnson, and H. Sprince. 1948. Nutritional requirements of *Trichomonas vaginalis*. Proc Soc. Exp. Biol. Med. 67:304-308.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.

3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1999. Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis
8. Dawson, M.S., R. Mraz, B.K. Garner, R. Brookman and H.P. Dalton. 1985. Comparison of diagnostic tests for the detection of *Trichomonas vaginalis* in clinical specimens. Abstr. C-16, p. 302. Abstr. 85th General Meeting of the American Society for Microbiology. 1985

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