



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid (caldo de Todd Hewitt **BBL** con gentamicina y ácido nalidíxico) se utiliza para el enriquecimiento selectivo de los estreptococos de grupo B (*Streptococcus agalactiae*).

II RENDIMIENTO DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Con pipetas estériles de 1,0 mL, inocular tubos con 1,0 mL de diluciones de cultivos de caldo de soja **Trypticase** de 18 – 24 h. La dilución utilizada debe contener hasta 1.000 UFC/mL de *S. agalactiae* y $1,0 \times 10^5$ UFC/mL de *E. coli*.
 - b. Incubar los tubos con las tapas flojas a 35 ± 2 °C en atmósfera aerobia.
2. Examinar los tubos durante un máximo de 3 días para detectar crecimiento.
3. Resultados previstos
 - **Streptococcus agalactiae*Crecimiento
ATCC 12386
 - **Escherichia coli*.....Sin crecimiento
ATCC 25922

*Tinción 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 a simple vista los tubos representativos para cerciorarse 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 $7,8 \pm 0,3$.
4. Incubar tubos representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar después de 7 días si hay indicios de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid (caldo de Todd Hewitt **BBL** con gentamicina y ácido nalidíxico) se utiliza para el enriquecimiento selectivo de los estreptococos de grupo B (*Streptococcus agalactiae*), en especial a partir de muestras genitales.

V RESUMEN Y EXPLICACION

Desde su aparición en los años 70, la enfermedad estreptocócica del grupo B neonatal se ha convertido en la causa de infección más importante de enfermedad y fallecimiento entre los recién nacidos. Antes de 1994, aproximadamente 7.600 casos de enfermedad invasiva estreptocócica del grupo B, principalmente sepsis y meningitis, ocurrían en los recién nacidos cada año en Estados Unidos, siendo precoces alrededor del 80% de dichos casos (dentro de la primera semana de vida)¹. La enfermedad se propaga a los recién nacidos por transmisión vertical de madre portadora de estreptococos del grupo B en el recto o los genitales.

Los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) han propuesto directrices para la detección y el uso de quimioprofilaxis intraparto para la prevención de la enfermedad estreptocócica del grupo B neonatal². El uso de Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid (o caldo Lim) se recomienda para elevar al máximo la probabilidad de recuperación de estreptococos del grupo B en placas de agar sangre de carnero^{2,3}.

También se han detectado estreptococos del grupo B en casos de sepsis en mujeres no parturientas, hombres, infección de las articulaciones, osteomielitis, infección de las vías urinarias e infección de heridas. Se asocian con endocarditis, neumonía e infecciones cutáneas y de tejidos blandos en pacientes inmunodeprimidos⁴.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El caldo de Todd Hewitt es un medio de uso general utilizado principalmente para el cultivo de estreptococos β -hemolíticos, especialmente para estudios serológicos^{5,6}. El medio es altamente nutritivo debido a su contenido de peptonas, dextrosa y sales. La dextrosa estimula la producción de hemolisina. El fosfato sódico y el carbonato sódico actúan como tampón para contrarrestar la acidez producida durante la fermentación de la dextrosa, por lo que se evita que el ácido inactive la hemolisina⁷.

Se obtiene selectividad de los estreptococos del grupo B al incluir gentamicina y ácido nalidixico en el medio. Los caldos de enriquecimiento selectivos incluyen las ventajas del enriquecimiento y la selección al proporcionar las condiciones que favorecen el crecimiento de los grupos de estreptococos del grupo B al tiempo que inhiben el crecimiento de contaminantes.

VII REACTIVOS

Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Infusión de corazón de (sólidos)	3,1	g
Peptonas	20,0	g
Dextrosa.....	2,0	g
Cloruro sódico.....	2,0	g
Fosfato sódico.....	0,4	g
Carbonato sódico.....	2,5	g
Gentamicina	8,0	mg
Acido nalidixico	15,0	mg

*Ajustada y/o suplementada 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"⁸⁻¹¹ y las directrices del centro. Después de su utilización, los tubos preparados, los recipientes para muestras y los materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento

En el momento de recibir los tubos, guardarlos en un lugar oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. No abrir hasta que vayan a utilizarse. 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, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consulte los textos correspondientes^{4,12}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX PROCEDIMIENTO

Material suministrado

Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliares, reactivos, organismos de control de calidad y el equipo de laboratorio según se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

Inocular los tubos e incubar con las tapas flojas a 35 ± 2 °C durante 18 – 24 h en atmósfera aerobia con o sin dióxido de carbono añadido.

Si se observa turbidez, realizar un subcultivo del cultivo de caldo en una placa de agar sangre de carnero; de otro modo, incubar unas 24 h adicionales antes de descartar^{3,4,13}.

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 de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

Se debería utilizar un electrodo suficientemente pequeño como para entrar en los tubos para determinar el pH potenciométricamente de los medios en tubos. La punta del electrodo se debe introducir en los caldos de cultivo.

X RESULTADOS

El crecimiento en el medio de caldo se indica por la presencia de turbidez en comparación con un control sin inocular.

Realizar un subcultivo en una placa de agar de soja **Trypticase** con 5% de sangre de carnero (TSA II) e incubar durante 18 – 24 h, o hasta 48 h en caso necesario. Identificar los organismos que posiblemente sean estreptococos del grupo B (β -hemolíticos o no, gram positivos o negativos a la catalasa). Se puede llevar a cabo una identificación específica; por ejemplo, con sueros para determinación del grupo estreptocócico, la prueba CAMP u otros procedimientos.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y los procedimientos recomendados^{4,12,14}.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid se analizan para determinar las características de rendimiento. Se inoculan muestras representativas del lote con 1,0 mL de *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12386) diluido a una concentración de hasta 1.000 UFC (unidades formadoras de colonias) por mL y 1,0 mL de *Escherichia coli* (ATCC 25922) diluido a una concentración de 10^5 UFC/mL. Los tubos se incuban con las tapas flojas a 35 ± 2 °C. *S. agalactiae* muestra crecimiento moderado a denso a los 3 días, mientras que *E. coli* es inhibido después de 3 días de incubación.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
299486	BD BBL Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid, caja de 100 tubos de tamaño K

XIV REFERENCIAS

1. Federal Register. 1994. Prevention of group B streptococcal disease: a public health perspective. Fed. Regist. 59:64764-64773.
2. Centers for Disease Control and Prevention. 2002. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 51 (No. RR-11):1.
3. Ruoff, K.L., R.A. Whiley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*, p. 405-421. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
5. Todd, E.W., and L.F. Hewitt. 1932. A new culture medium for the production of antigenic streptococcal haemolysin. J. Pathol. Bacteriol. 35:973-974.
6. Updyke, E.L., and M.I. Nickle. 1954. A dehydrated medium for the preparation of type specific extracts of group A streptococci. Appl. Microbiol. 2:117-118.

7. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
9. 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.
10. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
11. 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.
12. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Isenberg, H. (ed.) 2004. *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1, 2 and 3, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. *Bergey's Manual™ of determinative bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD