



BBL GN Broth

L007455 • Rev. 13 • Octubre 2015



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD (Opcionales)

I INTRODUCCION

GN (Gram Negative) Broth (caldo gram negativo) es un medio de enriquecimiento selectivo para el cultivo de organismos entéricos gram negativos.

II REALIZACION DELPROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Con asas calibradas estériles desechables de 0,01 mL, inocular los tubos con diluciones de 10^{-1} de cultivos de caldo de soja **Trypticase** de 18–24 h.
 - b. Incubar los tubos con las tapas flojas a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia.
2. Después de una incubación de 18–24 h, subcultivar todos los tubos en placas de agar MacConkey II. Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C durante 18–24 h observar para detectar crecimiento.

3. Resultados previstos

Organismos de control CLSI (cepas ATCC)

**Salmonella enterica*

subsp. *enterica*

serotipo Typhimurium (14028)

**Shigella sonnei* (9290)

**Escherichia coli* (25922)

MacConkey II Agar

Crecimiento en subcultivo en 24 h.

MacConkey II Agar

Crecimiento en subcultivo en 24 h.

MacConkey II Agar

Crecimiento en subcultivo en 24 h.

*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. Incubar tubos representativos sin inocular a una temperatura de 20–25 °C y 30–35 °C y examinar después de 7 días en busca de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

GN Broth se utiliza para el enriquecimiento selectivo de *Salmonella* y *Shigella*.

V RESUMEN Y EXPLICACION

GN (Gram Negative) Broth fue desarrollado por Hajna como un medio de enriquecimiento para la recuperación de *Salmonella* y *Shigella* a partir de muestras clínicas^{1,2}. Croft y Miller lograron aislar más cepas de *Shigella* utilizando este medio y no por extensión directa de la muestra³. Taylor y Schelhart reseñaron que GN Broth mejoraba el aislamiento de los patógenos entéricos, lo que producía un incremento de 53% en *Shigella* y 36% en *Salmonella* en comparación con la extensión directa de la muestra⁴.

GN Broth actualmente se recomienda para su uso en examen microbiológico de alimentos⁵.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Los digeridos de caseína enzimáticos y el tejido animal aportan aminoácidos y otras sustancias nitrogenadas que favorecen el crecimiento bacteriano. El manitol y la dextrosa son fuentes de energía. El manitol se proporciona en una concentración más alta que la dextrosa para favorecer el crecimiento de las especies fermentadoras de manitol tales como *Salmonella* y *Shigella*, y limitar el crecimiento de *Proteus* y otras bacterias fermentadoras de dextrosa. Los tampones de fosfato se incorporan para mantener el pH del medio. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico. El

citrato sódico y el desoxicolato de sodio se añaden para inhibir las bacterias gram positivas y algunas negativas.

VII REACTIVOS

GN Broth

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	10,0	g
Digerido péptico de tejido animal	10,0	g
Dextrosa	1,0	g
D-manitol	2,0	g
Citrato sódico	5,0	g
Desoxicolato de sodio	0,5	g
Fosfato dipotásico	4,0	g
Fosfato monopotásico	1,5	g
Cloruro sódico	5,0	g

*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"⁶⁻⁹ y las directrices del centro. Después de su utilización, los tubos preparados, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento

Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 8 °C. No congelar ni sobrecalentar. 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, consultar los textos correspondientes^{10,11}. 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

GN Broth

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

Inocular el caldo tan pronto como sea posible después de recibir las muestras en el laboratorio. Las muestras de torunda pueden ser insertadas directamente en el caldo. Para las muestras fecales, utilizar 1 g de heces o 1 mL de heces líquidas por tubo. Consultar las referencias correspondientes para obtener información acerca del procesamiento e inoculación de otras muestras clínicas o muestras alimentarias^{5,10-12}.

Incubar los tubos con las tapas flojas a 35 °C y subcultivar en medios selectivos y de diferenciación después de 6–8 h de incubación de incubación y nuevamente después de 18–24 h incubación¹³.

Control de calidad del usuario

Véase “Procedimientos de control de calidad”.

Cada lote de medios se ha probado con los microorganismos de control de calidad adecuados mediante una prueba que cumple las especificaciones del producto y los criterios aplicables del CLSI. Como siempre, las pruebas de control de calidad se deben llevar a cabo conforme a la normativa local, estatal, federal o nacional aplicable, a los requisitos de los organismos de acreditación y/o a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.

X RESULTADOS

El crecimiento en medios de caldo se indica por medio de la turbidez en comparación con el control sin inocular. Se preparan subcultivos en medios selectivos y de diferenciación apropiados para aislar los patógenos para su identificación.

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 recomendados⁵⁻¹².

XII CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

En un estudio realizado por Taylor y Schelhart, se realizó una comparación de tres caldos de enriquecimiento (GN, Selenite y Silliker) y tres medios en placa (EMB, SS y XLD) para determinar la combinación de medios que mejoraría la detección de shigellae¹⁴. Se analizó un total de 1.405 muestras fecales durante este estudio, con una distribución observada de 158 aislados de salmonellae y 49 de shigellae. Los caldos de enriquecimiento duplicaron el número de aislamientos de salmonellae y shigellae en medios en placa. Todos los caldos tuvieron resultados equivalentes para la detección de salmonellae, pero los caldos GN y Silliker detectaron dos veces más aislados de shigellae que el caldo Selenite.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

221729 **BD BBL GN Broth**, 8 mL, pqt. de 10 tubos de tamaño K

221730 **BD BBL GN Broth**, 8 mL, caja de 100 tubos de tamaño K

XIV REFERENCIAS

1. Hajna, A.A. 1955. A new specimen preservative for gram-negative organisms of the intestinal group. Public Health Lab. 13:59-62.
2. Hajna, A.A. 1955. A new enrichment broth medium for gram-negative organisms of the intestinal group. Public Health Lab. 13:83-89.
3. Croft, C.C., and M.J. Miller. 1956. Isolation of *Shigella* from rectal swabs with Hajna "GN" broth. Am. J. Clin. Pathol. 26:411-417.
4. Taylor, W.I., and D. Schelhart. 1967. Isolation of shigellae. IV. Comparison of plating media with stools. Am. J. Clin. Pathol. 48:356-362.
5. Downes, F.P. and K. Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.

11. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
12. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
13. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
14. Taylor, W.I. and D. Schelhart. 1968. Isolation of Shigellae. V. Comparison of enrichment broths with stools. Appl. Microbiol. 16:1383-1386.

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