



BBL Selenite-F Broth



L007497 • Rev. 12 • Octubre 2015

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD (Opcionales)

I INTRODUCCION

Selenite-F Broth (caldo de Selenita F) es un medio de enriquecimiento para el aislamiento de *Salmonella* y algunas especies de *Shigella*.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Mediante pipetas estériles desechables de 1,0 mL, inocular tubos con 1,0 mL de Caldo de Soja **Trypticase** de 18–24 h de *Salmonella* Typhimurium y *Shigella sonnei* diluido para contener 10^2 – 10^3 UFC/mL.
 - b. A cada uno de los tubos inoculados como se indica anteriormente, añadir 1,0 mL de un cultivo de TSB de 18–24 h de *Escherichia coli* diluido para contener 10^2 – 10^3 UFC/mL. Se incluye un tubo sin inocular de Selenite-F Broth en el subcultivo y la incubación en calidad de control del crecimiento.
 - c. Mezclar bien todos los tubos.
2. Incubar los tubos con las tapas flojas a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia durante 18–24 h. Después de la incubación, mezclar bien los tubos y extender en placas de agar MacConkey II un asa del contenido de cada uno de los tubos.
3. Incubar las placas de agar MacConkey II a 35 ± 2 °C durante 18–24 h in en una atmósfera aerobia. Examinar las placas de MacConkey II Agar para determinar la cantidad de crecimiento de organismos lactosa positivos (colonias rosas) y lactosa negativos (colonias incoloras).
4. Resultados previstos

Organismos de control CLSI (cepas ATCC)

Recuperación en Agar MacConkey II

**Salmonella enterica*
ssp. *enterica* serotipo
Typhimurium (14028)

Crecimiento de promedio a denso de colonias incoloras

Shigella sonnei (9290)

Crecimiento de promedio a denso de colonias incoloras

Escherichia coli (25922)

Inhibición de parcial a completa (colonias rosas)

NOTA: El control de crecimiento no muestra crecimiento en el agar MacConkey II.

*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 $7,0 \pm 0,2$.
4. 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

Selenite-F Broth se utiliza como medio de enriquecimiento para el aislamiento de *Salmonella* a partir de muestras de heces, orina, agua, alimentos y otros materiales de importancia sanitaria.

V RESUMEN Y EXPLICACION

Selenite-F Broth fue diseñado por Leifson¹, quien demostró que la selenita inhibía los microorganismos coliformes y ciertas otras especies microbianas tales como los estreptococos fecales presentes en las muestras fecales y, por consiguiente, era beneficioso para la recuperación de la especie *Salmonella*. Descubrió que siempre acababa produciéndose una afloración de las cepas inhibidas, pero si los cultivos se hacían a partir del caldo enriquecido después de 8 – 12 h de

incubación, el aislamiento de *Salmonella* era posible sin un crecimiento abrumador de numerosos miembros de la flora intestinal.

Los medios de enriquecimiento se utilizan sistemáticamente para la detección de patógenos en muestras fecales porque los patógenos por lo general representan sólo un pequeño porcentaje de la flora intestinal. Selenite-F Broth y el medio relacionado Selenite Cystine Broth, están recomendados para su uso en la recuperación de *Salmonella* con subcultivos después de una incubación de 12 – 18 h. Para la detección de *Shigella*, GN Broth es un medio de enriquecimiento satisfactorio². *Campylobacter* Thioglycollate Medium con 5 agentes antimicrobianos es el medio recomendado para las muestras presuntas de *Campylobacter jejuni* cuando se prevén bajas cantidades de organismos debido al transporte demorado al laboratorio y dado que ha transcurrido la etapa aguda de la enfermedad³.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La peptona de caseína proporciona los compuestos nitrogenados y de carbono esenciales. La lactosa en el medio sirve para mantener un pH uniforme. Cuando la selenita se reduce por el crecimiento de las bacterias, se produce álcali, con un incremento del pH que reduce la toxicidad de la selenita y, por consiguiente, se produce un crecimiento excesivo de bacterias extrañas. El ácido producido por la fermentación de lactosa mantiene un pH neutro o levemente reducido. La función del fosfato es doble. Mantiene un pH estable y también reduce la toxicidad de la selenita, por lo que incrementa la capacidad del medio. La selenita de sodio inhibe varias especies de bacterias gram positivas y gram negativas, incluidos los enterococos y microorganismos coliformes.

VII REACTIVOS

Selenite-F Broth

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	5,0	g
Lactosa	4,0	g
Selenita de sodio	4,0	g
Fosfato sódico	10,0	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"⁴⁻⁷ 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^{8,9}. 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

Selenite-F 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.

Para las muestras fecales y otros materiales sólidos, suspender 1 o 2 g de la muestra en el caldo (aproximadamente 10 – 15% por volumen) y emulsionar con la aguja de inoculación si fuese necesario.

Incubar los tubos con las tapas aflojadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante un máximo de 24 h. Los subcultivos deben realizarse después de 12 – 18 h de incubación si fuese posible. Los microorganismos coliformes tenderán a crecer excesivamente y superar a los patógenos si se realiza una incubación de más de 24 h.

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.

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

Después de la incubación, debe haber un incremento del número de patógenos que han de ser seleccionados y enriquecidos por el medio. El subcultivo en medios selectivos y de diferenciación apropiados (por ejemplo, MacConkey Agar, Hektoen Enteric Agar, XLD Agar, XLT4 Agar y CHROMagar Salmonella) 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 conjuntamente con medios en placas selectivos y no selectivos para aumentar la probabilidad de aislar los patógenos en especial cuando puedan estar presentes en pocas cantidades. 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 procedimientos recomendados⁸⁻¹⁰.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

En un estudio realizado por Kelly et al¹¹, 8,717 se enviaron muestras fecales al laboratorio para cultivo. Las muestras se inocularon directamente en XLD Agar y en caldo para enriquecimiento selenita. Después de 12 – 18 h, el caldo selenita fue sometido a subcultivo en agar XLD. Se identificó *Salmonella enterica* en 312 (3,6%) de las muestras fecales; 197 (63%) fueron de casos previamente diagnosticados y 115 (37%) fueron de casos recientemente identificados. De los 115 nuevos aislados de *S. enterica*, 68 fueron recuperados de la placa XLD primaria y el caldo selenita. Sin embargo, 47 (41%) crecieron solamente después del enriquecimiento con selenita.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

221020	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL pqt. de 10 tubos de tamaño K
221021	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL caja de 100 tubos de tamaño K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Leifson, E. 1936. New selenite selective enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid *Salmonella* bacilli. Am. J. Hyg. 24:423-432.
2. Taylor, W.I., and B. Harris. 1965. Isolation of Shigellae, II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Pathol. 44:476-479.
3. Nachamkin, I. 1999. *Campylobacter* and *Arcobacter*, p. 716-726. 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.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. 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.
11. Kelly, S., M. Cormican, L. Parke, G. Corbett-Feeney, and J. Flynn. 1999. Cost-effective methods for isolation of *Salmonella enterica* in the clinical laboratory. J. Clin. Microbiol. 37: 3369.

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