



BBL OF Basal Medium
BBL OF Medium with Dextrose
L007484 • Rev. 10 • Abril 2015



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

OF Basal Medium (medio basal OF), suplementado con un carbohidrato adecuado, se utiliza para determinar las actividades metabólicas oxidativas y fermentativas de los bacilos gram negativos.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Aflojar las tapas y hervir el medio en baño María en ebullición* durante aproximadamente 2 min antes de utilizar. Enfriar a temperatura ambiente.
***NOTA:** No se recomienda utilizar un horno de microondas.
2. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Inocular dos tubos de cada medio insertando una aguja recta una vez en el medio, casi hasta el fondo del tubo. Para los inóculos, utilizar cultivos de 18–24 h de Agar de Soja **Trypticase** with 5% Sheep Blood (TSA II).
 - b. Cubrir un tubo de cada par con 1,0 mL de aceite mineral estéril. Incluir los tubos de control sin inocular (cubiertos y sin cubrir).
 - c. Incubar los tubos a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia.
3. Examinar los tubos después de 18 – 24 h y 42 – 48 h en busca de crecimiento y reacciones.
4. Resultados previstos

Medio	Organismo	ATCC	Reacción	
			Descubierta	Cubierta con aceite
OF Basal Medium	* <i>Acinetobacter baumannii</i>	19606	–	–
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	–	–
	* <i>Shigella sonnei</i>	9290	–	–
OF with Dextrose	* <i>Alcaligenes faecalis</i>	19018	–	–
	* <i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	A	A
	* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	A	–
	* <i>Shigella sonnei</i>	9290	A	A

Leyenda: A = ácido (amarillo),

– = sin cambios (verde) o alcalino (azul)

*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 $6,8 \pm 0,1$ para el medio OF Medium with Dextrose y $6,8 \pm 0,2$ para el medio OF Basal Medium.
4. Incubar tubos representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar si presentan contaminación microbiana después de 7 días.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

Los medios OF (fermentación por oxidación) se utilizan para la determinación del metabolismo oxidativo y fermentativo de carbohidratos de los bacilos gram negativos sobre la base de la reacción ácida en el sistema abierto o el cerrado.

V RESUMEN Y EXPLICACION

OF Medium fue desarrollado por Hugh y Leifson, quienes han descrito la importancia taxonómica de la distinción entre el metabolismo fermentativo y el metabolismo oxidativo de los carbohidratos por parte de las bacterias gram negativas¹. Demostraron que, cuando se inocula un organismo en dos tubos de OF Basal Medium que contienen un carbohidrato, y el medio de uno de los tubos se cubre con petrolato fundido antes de la incubación, los patrones de metabolismo presentan importantes diferencias. Los organismos de comportamiento oxidativo sólo producen una reacción ácida en el tubo abierto, con crecimiento escaso o nulo, y no se registra formación de ácido en el tubo cubierto. Los organismos con propiedades fermentativas producirán una reacción ácida en los dos tubos.

Se considera que los cambios en el agar cubierto se deben a una fermentación verdadera, mientras que los cambios en los tubos abiertos se deben a la utilización oxidativa del carbohidrato presente. Si el carbohidrato no es utilizado por ninguno de los métodos, no se produce ácido en ningún tubo.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El medio contiene una alta concentración de carbohidratos añadidos en comparación con la concentración de la peptona, para evitar la utilización de esta última por parte de un organismo aerobio, y la producción resultante de una reacción alcalina que neutralizaría la ligera acidez producida por un organismo oxidativo². El fosfato dipotásico añade capacidad de tampón al medio. El agar permite la determinación de la movilidad y favorece la distribución homogénea del ácido producido en la superficie del medio³.

La dextrosa es el carbohidrato más importante para uso en el OF Basal Medium; sin embargo, ciertos organismos pueden metabolizar otros carbohidratos incluso si no pueden utilizar la dextrosa.

VII REACTIVOS

OF Basal Medium

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	2,0	g
Cloruro sódico	5,0	g
Fosfato dipotásico	0,3	g
Agar	2,5	g
Azul de bromotimol	0,03	g

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

OF Medium with Dextrose, contiene los elementos anteriores con 10,0 g de dextrosa por litro.

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.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todo el proceso. Antes de desecharlos, esterilizar en autoclave los tubos preparados, los recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado.

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.

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

Este medio no está diseñado para ser utilizado directamente con muestras ni cultivos mixtos. El organismo de prueba debe encontrarse primero en un cultivo puro.

IX PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: OF Basal Medium u OF Medium with Dextrose

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.

Aflojar las tapas y hervir el medio en baño María en ebullición* durante aproximadamente 2 min antes de utilizar. Enfriar a temperatura ambiente.

Inocular un par de tubos OF con cada organismo de la prueba. Se debe insertar una aguja de inoculación con inóculo ligero en los tubos, a una distancia aproximada de 0,6 cm del fondo. Cubrir un tubo de cada par con 1,0 mL de aceite mineral estéril. Incluir los tubos de control sin inocular (cubiertos y sin cubrir).

Incubar los tubos a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia durante 48 h. No descartar como negativo hasta después de 4 días de incubación.

*NOTA: No se recomienda utilizar un horno de microondas.

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 aplicable, 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. En los medios semisólidos, la punta del electrodo debería estar colocada en la parte central de la masa de agar.

X RESULTADOS

Registrar resultados como ácido (A), alcalino o sin cambios (–). También registrar si el organismo es móvil o no, lo que se demuestra por un crecimiento que se aleja de la línea de inoculación. Los patrones de reacción característicos son los siguientes^{2,3}:

Reacción	Tubo con reacción	Tubo abierto	Tubo cubierto
Oxidación (O)	Abierto	Amarillo (A)	Verde (–)
Fermentación (F)			
Anaerógeno	Cubierto	Amarillo (A)	Amarillo (A)
Aerógeno	Cubierto	Amarillo (A)	Amarillo (A)
Ni oxidación ni fermentación (–)	Ninguno*	Azul o verde (–)	Verde (–)
Tanto oxidación como fermentación (O/F)	Ambos	Amarillo (A)	Amarillo (A)

A = producción de ácido

– = sin cambios o alcalino

* = Lectura de control sin carbohidrato inoculado; sin cambios de color.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO⁴

La reacción ácida producida por los organismos oxidativos se detecta primero en la superficie y se extiende gradualmente a todo el medio. En los lugares en que la oxidación es débil o lenta, se puede observar una reacción alcalina inicial en la superficie del tubo abierto, que puede persistir durante varios días, pero que finalmente se volverá ácida.

Los organismos no sacarolíticos producen una ligera alcalinidad en el tubo abierto (color azul verdoso), pero en el tubo cerrado no se detectará cambio de color (verde).

Con fines de identificación, los organismos deben encontrarse en 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 recomendados^{2,5-7}.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

OF Basal Medium

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de OF Basal Medium se analizan para determinar las características específicas del producto. Se inoculan muestras insertándolas directamente en dos tubos del medio con cultivos de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Shigella sonnei* ATCC 9290 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, cultivados durante 18 - 24 h en **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood. Un tubo para cada organismo se cubre con 1 mL de aceite mineral. Los tubos se incuban con las tapas flojas a una temperatura de 35 – 37 °C durante 2 días en una atmósfera aerobia. No se registra cambio de color con los organismos en los medios con o sin aceite mineral.

OF Medium with Dextrose

Kantor et al. desarrollaron un esquema rápido y simplificado, utilizando un mínimo de tres y un máximo de siete pruebas, que podría utilizarse de manera sistemática en los laboratorios para identificar bacterias gram negativas no fermentativas.

Mediante este esquema se identificó un total de 229 organismos gram negativos no fermentativos desconocidos y 14 cepas de referencia. Se utilizó OF Basal Medium with Glucose (Dextrose), junto con las pruebas de oxidasa y de movilidad como los medios de análisis principales para subdividir los organismos no fermentadores. Se utilizó OF glucose para facilitar la determinación de especies de *Acinetobacter*. Para los organismos no móviles con resultado positivo a la oxidasa, OF glucose se utilizó para favorecer en la diferenciación de la especie *Moraxella* de la especie *Flavobacterium*. Se utilizó OF glucose para diferenciar *Pseudomonas alcaligenes* de otras especies de *Pseudomonas* móviles con resultado positivo a la oxidasa⁸.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

221326 **BD BBL** OF Basal Medium, pqt. de 10 tubos de tamaño K

221328 **BD BBL** OF Medium with Dextrose, pqt. de 10 tubos de tamaño K

221329 **BD BBL** OF Medium with Dextrose, caja de 100 tubos de tamaño K

XIV REFERENCIAS

1. Hugh, R., and E. Leifson. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.* 66:24-26.
2. MacFaddin, J.F. 2000. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
3. MacFaddin, J.F. 1985. *Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria*, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Shigei, J. 1992. Test methods used in the identification of commonly isolated aerobic gram-negative bacteria. Oxidation-fermentation test, p. 1.19.50-1.19.53. *In* H.D. Isenberg (ed.), *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Miller, J.M., H.T. Holmes, and K. Krisher. 2003. General principles of specimen collection and handling, p. 55-66. *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.
6. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
7. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 5th ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.
8. Kantor, L.T., S.D. Kominos, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *Am. J. Med. Technol.* 41:3-9.

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