BD Medios BBL preparados en tubos para el cultivo de microorganismos anaerobios
Medios de tioglicolato

8807191JAA(01)
2013-11
Español

USO PREVISTO

Fluid Thioglycollate Medium Enriched (medio de tioglicolato fluido enriquecido) es un medio de uso general para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos, en especial anaerobios estrictos.

El medio de tioglicolato con carbonato cálcico también se recomienda para el mantenimiento de cultivos de referencia.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El medio de tioglicolato fue descrito originalmente por Brewer como medio que favorecía el crecimiento de los organismos aerobios y anaerobios estrictos[1]. Posteriormente, se formularon varias versiones del medio.

Se recomienda la incorporación de carbonato de calcio porque ciertos organismos que de otra manera serían exigentes pueden crecer y luego desaparecer rápidamente; así se puede neutralizar el ácido producido durante el crecimiento[2,3].

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La caseína, las peptonas de soja y la L-cistina proporcionan aminoácidos y otras sustancias nitrogenadas para favorecer el crecimiento bacteriano. El extracto de levadura aporta vitaminas del complejo B. El cloruro sódico aporta iones esenciales. La dextrosa es una fuente de energía.

El medio de tioglicolato fluido enriquecido se suplementa con hemina y vitamina K_1 para favorecer el crecimiento de determinadas bacterias anaerobias[3-5].

El carbonato de calcio facilita el mantenimiento de los cultivos de referencia, al neutralizar los ácidos producidos durante el crecimiento[3].

La acción reductora del tioglicolato sódico y el sulfito sódico liga el oxígeno molecular, que se extrae del medio y mantiene un Eh bajo[6]. Se añade una pequeña cantidad de agar para retardar la absorción del oxígeno, al reducir las corrientes de convección en el medio[6].

La resazurina es un indicador utilizado para detectar los cambios en Eh[3]. Un aumento en la oxidación eleva el Eh, lo que cambia la resazurina a color rosa. El indicador permanece incoloro si el Eh permanece bajo.

REACTIVOS

Fluid Thioglycollate Medium, Enriched

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	15,0 g
L-cistina	0,5 g
Dextrosa	5,0 g
Extracto de levadura	5,0 g
Cloruro sódico	2,5 g
Tioglicolato sódico	0,5 g
Resazurina	0,001 g
Agar	0,75 g
Hemina	0,1 g
Vitamina K_1	2,0 mg

Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	17,0 g
Digerido papaínico de harina de soja	3,0 g
Dextrosa	6,0 g
Cloruro sódico	2,5 g
Tioglicolato sódico	0,5 g
Agar	0,7 g
Sulfito sódico	0,1 g
Fragmentos de mármol	1 por tubo

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

Advertencias y precauciones: Para uso diagnóstico *in vitro*

Se debe tener cuidado al informar de los resultados de la tinción de Gram directa o de otros métodos directos de tinción microbiológica en muestras tisulares procesadas con este medio, debido a la posible presencia de microorganismos no viables en el medio de cultivo.

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"[7-10] y las pautas del centro.

Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

Instrucciones de almacenamiento: Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro según las instrucciones que figuran en la etiqueta. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. 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 vencimiento 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, evaporación o cualquier otro signo de deterioro.

Para Fluid Thioglycollate Medium, Enriched, descartar los tubos si se ha oxidado más de un tercio del medio, como se indica por la formación de una decoloración rosa.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Estos medios no están destinados para su uso directo con las muestras, excepto como caldo de enriquecimiento de "respaldo" además de los medios en placa primarios. Consultar los textos correspondientes para obtener información.[4,11,12]

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Conforme al pedido (véase "DISPONIBILIDAD").

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiere para llevar a cabo este procedimiento.

Procedimiento de análisis: Cumplir las técnicas asépticas.

Los medios para incubación anaerobia deben reducirse antes de la inoculación, colocando los tubos, con las tapas flojas, en atmósfera anaerobia durante 18 a 24 h antes del uso. Una manera fácil y eficaz de obtener las condiciones anaerobias adecuadas es mediante el uso del sistema anaerobio **GasPak** EZ. También se pueden reducir los medios líquidos inmediatamente antes de su utilización hirviéndolos, con las tapas flojas, y dejándolos enfriar, con las tapas ajustadas, a temperatura ambiente antes de su inoculación. **NOTA:** Para un rendimiento óptimo, no hervir los tubos más de una vez.

Inocular la muestra en los medios seleccionados tan pronto como se reciba en el laboratorio. En las muestras líquidas, inocular los medios en tubos con una o dos gotas de la muestra. Las muestras tisulares deben triturarse y pulverizarse en un caldo reducido estéril, tal como el Enriched Thioglycollate Medium para el cultivo de microorganismos. La inoculación se realiza como con las muestras líquidas. Las muestras de torundas pueden insertarse en el caldo después de inocular los medios en placa. También, la torunda puede "fregarse" en un pequeño volumen de caldo reducido estéril y éste utilizarse para inocular los medios de la manera en que se hace con las muestras líquidas.

Las especies que se conoce o sospecha que contienen anaerobios estrictos deben inocularse cerca del fondo del tubo. Incubar a 35 ± 2 ºC o cualquier otra temperatura adecuada, preferentemente en condiciones anaerobias.

Los cultivos de caldo deben mantenerse al menos 1 semana antes de ser descartados como negativos.

Control de calidad del usuario:

1. Examinar si los tubos presentan signos de deterioro (como se describe en "Deterioro del producto").
2. Evaluar el rendimiento mediante inoculación de una muestra representativa de tubos con cultivos puros de organismos de control estables que dan reacciones esperadas y conocidas. Se recomiendan los siguientes cultivos:

Medio	Cepa de prueba	Resultados previstos
Todos los medios	*Bacteroides vulgatus* ATCC 8482	Crecimiento
	Clostridium perfringens ATCC 13124	Crecimiento

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.

RESULTADOS

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

Examinar el crecimiento mediante tinción de Gram. Subcultivar en medios en placa selectivos y no selectivos apropiados.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Los caldos de enriquecimiento no deben utilizarse como único medio de aislamiento. Deben utilizarse conjuntamente con medios selectivos y no selectivos preparados en placa para aumentar la probabilidad de aislamiento de patógenos, en especial si éstos pueden estar presentes en pequeñas cantidades.

Para su identificación, los organismos se deben encontrar en cultivo puro. Se deben llevar a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final[4,11,13-16].

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Fluid Thioglycollate Medium, Enriched se analizan para determinar sus características de rendimiento. Antes de la inoculación, se reducen muestras representativas del lote hirviéndolas en baño María durante un mínimo de 10 min y se dejan enfriar. Con un asa calibrada de 0,01 mL, se inoculan tubos con cultivos que han sido ajustados según un patrón de turbidez de 0,5 de McFarland. Los inóculos para *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) y *Peptostreptococcus anaerobius* (ATCC 27337) se preparan a partir de colonias cultivadas en placas de agar 5% sangre de carnero para anaerobios del CDC y se ajustan a la concentración de inóculo correcta en Thioglycollate Medium, Enriched previamente reducido. El inóculo de *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482) se extrae del medio enriquecido de tioglicolato y el inóculo de *C. novyi* (ATCC 7659) se extrae del caldo de glucosa de carne picada, PR II. Los tubos se inoculan por debajo de la superficie de los caldos, tan profundo como sea posible en el medio. Las tapas se ajustan de inmediato después de la inoculación y se incuban los tubos en atmósfera aerobia a 35 ± 2 ºC. Se efectúa la lectura de los tubos para determinar la cantidad de crecimiento después de 18 a 24 h y 42 a 48 h. Todos los organismos muestran traza de crecimiento ligero a crecimiento denso después de 48 h.

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Enriched Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate se someten a prueba para determinar sus características de rendimiento. Antes de la inoculación, se reducen muestras representativas del lote hirviéndolas en baño María durante un mínimo de 10 min y se dejan enfriar. Con un asa calibrada de 0,01 mL, se inoculan tubos con cultivos que han sido ajustados según un patrón de turbidez de 0,5 de McFarland. El inóculo para *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) se prepara a partir de colonias cultivadas en placas de agar 5% sangre de carnero para anaerobios del CDC y se ajustan a la concentración de inóculo correcta en Thioglycollate Medium, Enriched previamente reducido. El inóculo de *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482) se extrae del medio enriquecido de tioglicolato y el inóculo de *C. novyi* (ATCC 7659) se extrae del caldo de glucosa de carne picada, PR II. Los tubos se inoculan por debajo de la superficie de los caldos, tan profundo como sea posible en el medio. Las tapas se ajustan de inmediato después de la inoculación y se incuban los tubos en atmósfera aerobia a 35 ± 2 ºC. Se efectúa la lectura de los tubos para determinar la cantidad de crecimiento después de 18 a 24 h y 42 a 48 h. Todos los organismos muestran traza de crecimiento ligero a crecimiento denso después de 48 h.

DISPONIBILIDAD

Nº cat.	Descripción
297642	**BBL** Fluid Thioglycollate Medium, Enriched, caja de 100 tubos de tamaño K. CE
298518	**BBL** Thioglycollate Medium with Calcium Carbonate, caja de 100 tubos de tamaño K. CE

REFERENCIAS

1. Brewer, J.H. 1940. A clear liquid medium for the “aerobic” cultivation of anaerobes. J. Bacteriol. 39:10.
2. Vera, H.D. 1944. A comparative study of materials suitable for the cultivation of clostridia. J. Bacteriol. 47:59-70.
3. Reischelderfer, C., and J.I. Mangels. 1992. Culture media for anaerobes, p.2.3.1-2.3.8. In H.D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey & Scott’s diagnostic microbiology, 12th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
5. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus.* J. Bacteriol. 80:164-170.
6. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Rodloff, A.C., P.C. Applebaum, and R.J. Zabransky. 1991. Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology. Coordinating ed., A.C. Rodloff. American Society of Microbiology, Washington, D.C.
12. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1999. Specimen collection, transport, and storage, p. 33-63. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Holdeman, L.V., E.P. Cato, and W.E.C. Moore (ed.). 1977. Anaerobe laboratory manual, 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.
14. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
15. Summanen, P., E.J. Baron, D.M. Citron, C.A. Strong, H.M. Wexler, and S.M. Finegold. 1993. Wadsworth anaerobic bacteriology manual, 5th ed. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
16. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey’s Manual of determinate bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Üretici / Proizvođač / Производитель / Атқарушы

Use by / Spotřebujte do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použite do / Usar antes de / Använd före / Използвайте до / A se utiliza până la / Son kullanma tarihi / Upotrebiti do / Использовать до / дейін пайдалануға / Upotrijebiti do /
YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutning af måned) /
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä)
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /
ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /
MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutten av måneden)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiaca)
aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutet på månaden) /
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца) /
AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârşitul lunii) /
YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) /
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) /
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца) /
ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы)

REF Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalógové číslo / Número de catálogo / Каталожен номер / Număr de catalog / Katalog numarası / Kataloški broj / Номер по каталогу / Каталог нөмірі

EC REP Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselet az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизиран представител в ЕU / Reprezentant autorizat în Uniunea Europeană / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Ovlašćeni predstavnik u Evropskoj zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл

IVD In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaite / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisas / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicínska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diyagnostik Tıbbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы

Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegränsning / Температурни ограничения / Limitare de temperatură / Sıcaklık sınırlaması / Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу

LOT Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargenummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Numär lot (Lotul) / Parti Kodu (Lot) / Kod serije / Код партии (лот) / Топтама коды

Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları'na başvurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз

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

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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, BBL and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD