



BD Fluid Thioglycollate Medium (FTM)

USO PREVISTO

BD Fluid Thioglycollate Medium (medio líquido de tioglicolato BD) es un medio líquido de enriquecimiento de uso general utilizado en procedimientos cualitativos para la prueba de esterilidad y para el aislamiento y cultivo de aerobios como anaerobios y microaerófilos que no son exigentes en exceso. En microbiología clínica se puede utilizar como medio de enriquecimiento para muestras clínicas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

El medio líquido de tioglicolato fue diseñado por Brewer para el cultivo rápido tanto de anaerobios como aerobios¹. La incorporación de peptona en caseína fue introducida por Vera en 1944².

Este medio favorece un buen crecimiento de una amplia variedad de organismos, incluidos los anaerobios estrictos, sin incubación en una atmósfera anaerobia. El tioglicolato sódico no sólo reduce el potencial de oxidación-reducción, sino también posee la capacidad de neutralizar la actividad antibacteriana de los compuestos con mercurio. Dichas características hacen al FTM especialmente útil para la determinación de la presencia de contaminación en materiales biológicos y de otra clase. Debido a su capacidad para favorecer el crecimiento, esta fórmula fue adoptada por la Farmacopea de Estados Unidos (USP), el AOAC y la Farmacopea Europea (EP) como prueba de esterilidad y medio de enriquecimiento³⁻⁶. El medio líquido de tioglicolato es también utilizado ampliamente como medio de enriquecimiento en microbiología clínica, en especial para muestras de zonas corporales principalmente estériles⁷.

Debido a su bajo potencial de oxidación –reducción, **BD Fluid Thioglycollate Medium** no es el medio preferente para aerobios estrictos, tales como los no fermentadores, *Micrococcus* y organismos similares. Para dichos organismos se debe utilizar el caldo de soja triptica o caldo de infusión de cerebro y corazón.

En **BD Fluid Thioglycollate Medium**, la glucosa, la peptona y el extracto de levadura proporcionan los factores de crecimiento necesarios para el crecimiento bacteriano. El tioglicolato sódico y la L-cistina son agentes reductores que previenen la acumulación de peróxidos, que son letales para algunos microorganismos. La resazurina es un indicador de oxidación-reducción: presenta un color rosa con la muestra oxidada y es incolora cuando está reducida. La pequeña cantidad de agar ayuda al mantenimiento de un bajo potencial de oxidación-reducción, al estabilizar el medio contra las corrientes de convección, por lo que mantiene la anaerobiosis a mayores profundidades del medio⁸. Debido a su contenido de agar, el medio líquido de tioglicolato parece ligeramente opaco.

El medio listo para usar descrito en este documento se llena bajo una corriente de nitrógeno gaseoso, lo que causa una decoloración del indicador de resazurina. No obstante, el medio se puede utilizar hasta que se haya oxidado aproximadamente el 30% del mismo (capa superior), tal como lo indica el color rosa de la resazurina cerca de la superficie. Si prosigue la oxidación, el caldo puede recalentarse una vez al vapor o agua en ebullición, enfriarse y utilizarse.

La USP permite la presencia de agua en la glucosa (dextrosa) y por tanto presenta 5,5 gramos de dicho elemento en la fórmula³. Para evitar la presencia de humedad, indeseable en el medio deshidratado, se incorpora la cantidad equivalente de glucosa en forma anhidro.

REACTIVOS

BD Fluid Thioglycollate Medium (FTM)

Fórmula* por litro de agua purificada

Extracto de levadura	5,0 g	Cloruro sódico	2,5 g
Digerido pancreático de caseína	15,0	Tioglicolato sódico	0,5
Dextrosa (anhidro)	5,0	Resazurina	0,001
L-cistina	0,5	Agar	0,75

pH 7,1 ± 0,2

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

PRECAUCIONES

IVD . Solamente para uso profesional.

No utilizar los frascos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, agrietamiento o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir los frascos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 8 °C hasta momentos antes de su utilización. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Los frascos pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del envase) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Los frascos de envases abiertos pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad. Los frascos abiertos deben utilizarse de inmediato.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Analizar las muestras con los organismos mencionados a continuación. Para cumplir los requisitos de USP y EP, se debe utilizar un inóculo de 10 – 100 UFC por recipiente³⁻⁵. De acuerdo a la Farmacopea Europea, incubar los recipientes a 30 – 35 °C durante un máximo de 3 días en aire normal. Para obtener un crecimiento óptimo de los aerobios estrictos, los frascos deben ventilarse durante la incubación. Esto puede lograrse aflojando un poco las tapas.

Cepa de prueba	Resultados de crecimiento esperados (turbidez)*
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	+++ o más
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	++ o más
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	++ o más
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	+++ o más
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	+++ o más
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	+++ o más
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 8482	+++ o más
Sin inocular	De transparente a ligeramente opalescente, ámbar claro, la capa superior puede ser rosa

* +++++ = opaco, denso +++ = opalescente, denso ++ = opalescente + = leve crecimiento

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD Fluid Thioglycollate Medium suministrado en frascos (véanse los detalles en **ENVASE Y DISPONIBILIDAD**).

STERILE 

Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos de muestras

BD Fluid Thioglycollate Medium puede ser utilizado como medio de enriquecimiento para todos los tipos de muestras clínicas y no clínicas. Generalmente los cultivos de enriquecimiento

deben inocularse solamente si las muestras proceden de zonas corporales principalmente estériles. Tener en cuenta que algunos anaerobios estrictos requieren hemina y vitamina K para un crecimiento óptimo. Si hay probabilidad de encontrar dichos organismos, el medio puede ser suplementado con 10 mg de hidrocloreto de hemina y 1 mg de vitamina K1 (menadiona) por litro.

Procedimiento de análisis

BD Fluid Thioglycollate Medium por lo general se puede utilizar sin tratamiento previo adicional. Si se ha oxidado más del 30% del medio antes del uso (como lo indica el color rosa del indicador de resazurina), el medio se puede volver a calentar una vez durante 5 min con la tapa un poco floja al vapor o agua en ebullición, luego se enfría y se utiliza. Dado que el medio se ha llenado bajo una corriente de nitrógeno gaseoso, al ventilar los recipientes durante la incubación mejorará el crecimiento de las bacterias aerobias estrictas. Esto puede lograrse al aflojar un poco las tapas.

Para uso en microbiología clínica, el medio puede ser suplementado con 10 mg de hidrocloreto de hemina por litro (preparar de solución de referencia de 1:10 en NaOH 0,1 N, esterilizar por filtración y añadir la cantidad adecuada al frasco) y 1 mg de vitamina K1 por litro (preparar una solución de referencia de 1:10 en etanol puro, esterilizar por filtración y añadir una cantidad apropiada al frasco). Las soluciones de referencia de hemina y vitamina K pueden mantenerse refrigeradas durante 4 semanas en un lugar oscuro. No se requieren suplementos si se introduce una cantidad suficiente de sangre o suero de la muestra en el frasco durante la inoculación. Inocular las muestras directamente en el medio e incubar los tubos durante un máximo de 7 días a 35 ± 2 °C. Tener en cuenta que las muestras también deben ser inoculadas en medios sólidos, tales como **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** o **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood** y, finalmente, en medios selectivos y no selectivos adicionales. Para el aislamiento y cultivo de anaerobios estrictos, utilizar **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**. Dado que **BD Fluid Thioglycollate Medium** no es óptimo para el enriquecimiento de determinados aerobios estrictos, se puede inocular con la muestra un segundo medio de enriquecimiento líquido, por ej., caldo de infusión de cerebro y corazón.

Para las pruebas de esterilidad, deben seguirse las recomendaciones de la Farmacopea de Estados Unidos (USP) o la Farmacopea Europea y diversos organismos de control³⁻⁶. Dichas fuentes de referencias especifican la proporción de medio y producto que debe utilizarse en las pruebas de esterilidad además de los detalles de la toma de muestras y la interpretación de los resultados de las pruebas. Si la muestra de prueba causa tanta turbidez en el medio que el crecimiento microbiano no se puede reconocer fácilmente, se debe transferir la muestra a otro medio.

Resultados

Después de la incubación, el crecimiento se demuestra por la presencia de turbidez en los tubos. En caso de duda, se deben subcultivar las muestras apropiadas en medios en placa. Este procedimiento también debe seguirse si el organismo u organismos aislados se deben someter a una identificación adicional. Si se ventila antes o durante la incubación, los anaerobios obligados crecerán solamente en esa porción del caldo por debajo de la capa superior oxidada (color rosa).

Si se utiliza para el aislamiento de patógenos a partir de muestras clínicas, subcultivar una porción de 10 – 50 µL del medio incubado en **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** o **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood** para los aerobios, y en **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** o **BD CDC Anaerobe Agar with 5% sheep blood** para anaerobios estrictos. Tener en cuenta que deben proporcionarse las condiciones atmosféricas apropiadas para dichos subcultivos.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD Fluid Thioglycollate Medium se utiliza como medio de enriquecimiento en numerosas aplicaciones clínicas y no clínicas^{3-5,7,8}. Debido a sus propiedades fuertemente reductoras, se proporciona anaerobiosis sin incubación en atmósfera anaerobia. Para una recuperación óptima

de anaerobios exigentes, por ej., *Prevotella* spp., el medio debe ser suplementado con hemina y vitamina K1 (véase **Procedimiento de análisis**).

Aunque la mayoría de los aerobios obligados (por ej., *Micrococcus*, *Pseudomonas* y géneros relacionados, además de los bacilos aerobios estrictos formadores de esporas) generalmente crecen en este medio si los frascos se ventilan durante la incubación (generalmente crecen en forma de una delgada película cerca de la superficie), el medio líquido de tioglicolato no es el medio óptimo para la recuperación de aerobios estrictos. Para su recuperación se debe utilizar caldo de soja tríptica o caldo de infusión de cerebro y corazón.

Una vez que se vuelve a calentar, el FTM no debe ser calentarse nuevamente, ya que esto reduce el rendimiento microbiológico del medio.

El crecimiento obtenido en este medio debe someterse a subcultivo en medios sólidos apropiados para obtener cultivos puros que posteriormente puedan ser identificados con métodos apropiados para el o los aislados.

REFERENCIAS

1. Brewer, J.H. 1940. Clear liquid medium for the "aerobic" cultivation of anaerobes. J. Am. Med. Assoc. 115:598-600.
2. Vera, H.D. 1944. A comparative study of materials suitable for the cultivation of clostridia. J. Bacteriol. 47:59-70.
3. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 1999. The U.S. Pharmacopeia 24/The national formulary 19--2000. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md
4. Council of Europe, 1996. European Pharmacopoeia, 3rd edition. European Pharmacopoeia Secretariat. Strasbourg/France.
5. Council of Europe, 2000. European Pharmacopoeia, Supplement 2001. European Pharmacopoeia Secretariat. Strasbourg/France.
6. Cunniff, P. (ed.). 1995. Official methods of analysis of AOAC International, 16th ed. AOAC International, Gaithersburg, Md.
7. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., 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.
8. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.

ENVASE Y DISPONIBILIDAD

BD Fluid Thioglycollate Medium - Medio en frasco listo para usar

Nº de cat. 257144 50 unidades; 20 mL en un frasco de 30 mL con tapa roscada

INFORMACION ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de BD.



BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2003 Becton, Dickinson and Company