



Medio de OF Basal (sin carbohidratos)

REF 285-835

2



12

IVD Material para Diagnóstico *In Vitro*

Presentación:

Medio de cultivo listo para su uso.
Estuche de 30 unidades, Medio en tubos taponados de 12x120 mm. (ref. 285-835).

Composición (gramos / litro):

Peptona de caseína:	2.00
Fosfato di potásico	0.30
Cloruro de Sodio	5.00
Azul de Bromotimol:	0.03
Agar Bacteriológico	2.50
PH final medio de cultivo listo para el uso:	7.1 +/- 0.2

Descripción:

El Medio basal de OF (oxidación – fermentación) desarrollado por Hugh y Leifson es un medio diferencial utilizado para el estudio del metabolismo oxidativo o fermentativo de los carbohidratos en bacterias Gram negativas¹. Es de especial utilidad en el estudio de bacilos no fermentadores. A este medio de cultivo se le pueden adicionar diversos carbohidratos para verificar el tipo de metabolismo, tales como D-(+) glucosa, Lactosa, Sacarosa, etcétera.

Este producto corresponde a la **fórmula basal**, es decir sin hidratos de carbono, de manera que pueda cumplir como control de comparación frente a las pruebas realizadas con el medio OF adicionado de carbohidratos.

El metabolismo oxidativo o fermentativo origina cambios de pH en el medio de cultivo. Los cambios en el pH se verifican gracias al contenido de azul de bromotimol como viraje del verde al amarillo..

La prueba para determinar el tipo de metabolismo bacteriano frente a los hidratos de carbono se realiza con dos tubos: uno sellado con parafina fundida (sin presencia de oxígeno), y uno sin sello de parafina (con presencia de oxígeno).

El metabolismo oxidativo de los carbohidratos se observa como un cambio de color de verde a amarillo cuando se incuba el medio de cultivo en contacto con el oxígeno, y en ausencia de oxígeno (sellado) no se registra cambio de pH.

El metabolismo fermentativo frente a los carbohidratos se observará como viraje del verde al amarillo en ambos tubos (con y sin presencia de oxígeno), puede observarse también la producción de gas.

Además puede observarse desarrollo sin la ocurrencia de cambios de pH. En este caso se trata de bacterias indiferentes al carbohidrato que se prueba, o de bacterias que no tienen este tipo de metabolismo (Ej.: *Alcaligenes faecalis*).

Para cumplir correctamente con el protocolo de pruebas en medio de OF, como control comparativo deben sembrarse en paralelo un par de tubos de medio basal OF sin carbohidratos.

El cloruro de sodio contribuye al equilibrio osmótico del medio de cultivo. El agar actúa como agente gelificante.

Materiales y Reactivos necesarios, pero no suministrados:

Estufa de cultivo.
Asa de siembra.
Parafina sólida estéril, para fundir y sellar los tubos.

PRECAUCIONES PARA SU USO ADECUADO:

- Material para uso diagnóstico IN VITRO y control microbiológico.
- Solo para uso profesional. Requiere usuarios con entrenamiento previo.
- NO INGERIR EL PRODUCTO.
- No debe ser usado como materia prima para ninguna otra fabricación.
- El producto está concebido como elemento de control. No deben agregarse hidratos de carbono a este producto.
- No debe usarse pasado su fecha de expiración.
- No debe usarse si el envase esta deteriorado. Material garantizado solo con sellos intactos.
- No debe usarse si se observa contaminación bacteriana.
- Temperar los tubos antes de su uso. Retirar el tapón solo para su uso inmediato.
- Para la interpretación de los resultados se debe tener en cuenta las características propias de cada especie bacteriana sometida a prueba.
- El material utilizado debe descartarse de manera segura de acuerdo a las normativas de bioseguridad vigentes en el país.



Conservación:

Conservado refrigerado entre 2º y 12º C es estable hasta la fecha de caducidad. El medio de cultivo se debe almacenar taponado y en posición vertical. Se recomienda almacenar a temperaturas cercanas a 8ºC.

Muestras a cultivar:

Cepas aisladas de bacilos Gram negativos, que deban ser sometidas a pruebas de identificación basadas en el metabolismo de los carbohidratos frente al oxígeno.

Inoculación:

Antes de realizar la siembra, permitir que el medio de cultivo alcance la temperatura ambiente. Sembrar las muestras mediante picadura vertical profunda siempre en pares de tubos. Sellar uno de los tubos vertiendo cuidadosamente parafina estéril fundida hasta formar una capa de unos 6 a 10 mm. No deben quedar burbujas de aire en el sello.

Incubación:

Incubar en posición vertical por 48 horas entre 35° y 37°C . Algunas cepas pueden requerir mayor tiempo de incubación.

Lectura e Interpretación de Resultados:

Una vez completado el período de incubación, observar si ocurre algún cambio de pH en el medio de cultivo, por acidificación de verde a amarillo, o por alcalinización de verde a azul.

Resultado Inerte (I): Puede haber desarrollo bacteriano, pero no se verifican cambios en el pH del medio de cultivo en ambos tubos.

Cambios en el pH: implican acidificaciones o alcalinización del medio de cultivo por actividad metabólica distinta a la fermentación de carbohidratos. Estas reacciones deben considerarse al evaluar el comportamiento oxidativo o fermentativo frente a un determinado hidrato de carbono.

La evaluación de los resultados es válida solo para las condiciones de tiempo y temperatura de incubación señaladas. Períodos de incubación prolongados o a mayores temperaturas pueden alterar la respuesta del medio de cultivo para este aspecto.

Control de Calidad:

El usuario puede someter este medio de cultivo a sus propios controles de calidad. La frecuencia de los controles así como las cepas y condiciones de cultivo deberá establecerlas el propio usuario de acuerdo a la normativa local en vigencia.

A modo de referencia, puede realizarse el siguiente ensayo de control de calidad:

Resultados esperados tras 48 a 72 horas de cultivo a 33°-37°C:

Cepa de Control	Resultado esperado (F,O,I)
<i>Alcaligenes faecalis</i> ATCC 8750	Sin cambios (I)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Sin cambios (I)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Sin cambios (I)
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Sin cambios (I)
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Sin cambios (I)

Limitaciones de Uso:

El Medio de OF es un medio de cultivo selectivo y de bajo valor nutritivo, por lo que solo presentarán desarrollo todas las bacterias que no tengan mayores requerimientos nutricionales.

Este producto es preparado solo para efectos de patrón de comparación frente al uso de Medio de OF con carbohidratos. Las reacciones que puedan observarse en el medio basal no corresponden al metabolismo oxidativo o fermentativo de los carbohidratos.

Algunas especies bacterianas pueden requerir un mayor tiempo de incubación para verificar el desarrollo (hasta siete días).

Los resultados obtenidos deben complementarse con otras pruebas bioquímicas para obtener la identificación de especie bacteriana.

Control de esterilidad*:

1. - No hubo desarrollo a las 48 horas de cultivo (37°C, aeróbico).

2.- No hubo desarrollo a las 96 horas de cultivo (20°C, aeróbico).

Control de fertilidad*:

Al cultivar en este lote las cepas de control que se indican, se esperan los siguientes resultados de desarrollo: Cultivo a 37°C, durante 24 horas

Escherichia coli ATCC 25922: fermentativo, con producción de gas

Shigella flexneri ATCC 12022: fermentativo, sin producción de gas.

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853: oxidativo.

* Cumple norma ISO 13485:2003 y NCh 3162/2.Of2008 Certificados de conformidad para cada lote deben ser solicitados por el cliente.

Eliminación de Desechos:

El usuario es responsable de la adecuada eliminación de los materiales para diagnóstico microbiológico estén utilizados o no, para lo que deberá estar en conocimiento cabal de la normativa local vigente respecto de la disposición de material infeccioso o potencialmente infeccioso. Cada laboratorio asume la responsabilidad de la gestión de sus desechos y efluentes, sea por cuenta propia o mediante terceros que garanticen el adecuado tratamiento de estos, y según lo determinen las reglamentaciones locales vigentes.

Referencias:

- Hugh and Leifson. 1953. J. Bacteriol. 66:24.
- MacFaddin. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Shigei. 1992. In Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Cowan. 1974. Cowan and Steele's manual for the identification of medical bacteria, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, Mass.

Rev.01: 10/2009 CIO