Todd-Hewitt Caldo

IVD

Medio de cultivo preparado.

INTRODUCCIÓN

El estreptococo ß-hemolítico del grupo B es una causa importante de infecciones en neonatos y niños menores de 3 meses, con alta tasa de mortalidad, próxima al 6-10% de los infectados.
En los últimos años se ha producido un incremento de las infecciones por EGB en adultos susceptibles (diabéticos, alcohólicos, inmunodeprimidos, etc.); con una incidencia que oscila entre el 2 y 6%.
El EGB forma parte de la flora normal del tracto gastrointestinal, desde donde puede colonizar vagina y tracto urinario. La colonización puede ser intermitente, transitoria o crónica, y es por ello que el screening debe realizarse entre las semanas 35 a 37 de gestación.
En los recién nacidos (RN) la infección se produce durante el parto o a partir del tracto genital materno o en útero por vía ascendente. Existen factores de riesgo que se asocian con un mayor riesgo de infección al RN, como prematuridad, rotura de membrana de más de 18 hs, infección urinaria por EGB durante el embarazo, o en madres que hayan presentado partos anteriores con infección por EGB. Si bien el 50-80% de niños nacidos de madres portadoras se colonizan por EGB, el 1% desarrollan un cuadro de enfermedad bacteriana invasiva; porcentaje que aumenta hasta el 15–20%, por los factores de riesgo antes mencionados.
La infección en los neonatos puede causar neumonías, septicemia y meningitis, con una incidencia del 25% en los prematuros.

USO AL QUE ESTÁ DESTINADO

Medio de Cultivo selectivo para Estreptococo Grupo B (EGB). La combinación de las peptonas, la infusión de corazón conjuntamente con la glucosa, en la formulación del medio de Todd-Hewitt, lo hace un medio ampliamente usado para el cultivo de estreptococos. La adición de una combinación de antimicrobianos, a este medio, inhibe el crecimiento de la flora normalmente presente en los materiales provenientes del tracto vaginal y anorectal femenino, aumentando la recuperación del Estreptococo Grupo B. La combinación de antimicrobianos utilizada es Colistín-Nalidíxico con una concentración de 10-15 µg/ml.
El CDC (Centro de prevención y control de enfermedades de EEUU) recomienda la toma de hisopado vaginal (Tercio externo) y anorectal, sin espéculo, a toda mujer embarazada (no sólo a las portadoras de factores de riesgo) entre las semanas 35 y 37 de gestación.
Cerca de un 20% de mujeres embarazadas, sin factores de riesgo, dieron cultivos positivos para EGB.
Este screening se prefiere al tratamiento preventivo, de sólo las embarazadas con factores de riesgo.

COMPOSICIÓN DEL SISTEMA

Provisto:

- Medio de Cultivo Preparado.

Composición: (por litro)

Infusión Cerebro Corazón	500 ml
Peptona	15,0 g
Extracto de Levadura	1,0 g
Glucosa	2,0 g
Cloruro de Sodio	2,0 g
Fosfato disódico	0,4 g
Carbonato de Sodio	2,5 g
Colistín	0,010 g
Ácido Nalidíxico	0,015 g

pH final 7,8 ± 0,2 (25°C)

MATERIAL REQUERIDO

No provisto

- Hisopos.
- Estufa de cultivo.
- Tubos estériles.
- Placas estériles.

PREPARACIÓN

Medio listo para usar o fraccionar.
Se puede utilizar inoculando el material a cultivar, en su frasco original o bien podrán fraccionarse a tubos estériles, evitando cualquier contaminación en el fraccionamiento, se aconseja trabajar en flujo laminar. Los materiales a utilizar deben ser estériles. Una vez fraccionado, los tubos deben conservarse entre 2-10°C.

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Los frascos de Caldo Todd-Hewitt son estables hasta la fecha indicada en su envase, mantenido en su envase original y conservado entre 15-30°C.

LIMITACIONES Y CUIDADOS

- No utilizar si la fecha de vencimiento ha expirado o si se observan signos de deterioro.
- Seguir las normas de Bioseguridad al tomar la muestra y al descartar los materiales utilizados.

PROCEDIMIENTO

Toma de Muestra

El CDC recomienda el cultivo de hisopados vaginal y anorectal en un caldo selectivo. El hecho de realizar ambos hisopados, incrementa en aproximadamente un 25% la recuperación de EGB con respecto al hisopado de vagina solamente. La muestra se deberá tomar entre las semanas 35 a la 37 de gestación.

El hisopado vaginal debe provenir del tercio externo de vagina (introito vaginal). La toma de muestra se deberá realizar sin espéculo. Si el cultivo no se realiza en el día se debe colocar los hisopos en un medio de transporte como el Stuart o Amies, en los cuales se conservan por 4 días, preferentemente conservados a 4°C.

Siembra del material

Siempre ha de sembrarse en medio líquido (Caldo Todd-Hewitt), o medio líquido y sólido. En medio sólido se debe sembrar por estrías, para obtener colonias aisladas. El agar Todd-Hewitt (conteniendo 5% de sangre de carnero) es recomendado para tal fin. En este medio se obtienen colonias más grandes y zonas de hemólisis más claras.

Incubación

Las placas y/o tubos se incuban durante 18 a 24 hs a 35-37°C. Puede incubarse con o sin presencia de CO_2.

Subcultivos

Sembrar en placas de agar Todd-Hewitt (conteniendo 5% de sangre de carnero) e incubar durante 24-48 horas entre 35-37°C.
Puede incubarse con o sin presencia de CO_2.
Se ha encontrado que existe una inhibición de crecimiento del *S. agalactiae* cuando está presente el *Enterococcus faecalis*. Esta inhibición puede ser parcial o total, todavía no se conoce bien los mecanismos por esta competencia en el desarrollo.

EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Identificación de las colonias

Coloración de Gram: cocos gram positivos en pares o cadenas cortas.
Hemólisis: en la mayoría de los casos el *S. agalactiae* es beta hemolítico, pero se ha encontrado un 2% aproximadamente, de cepas que no presentan hemólisis.

Pruebas Bioquímicas:

- **Bacitracina:** el *S. agalactiae* es resistente a la bacitracina.
- **PYR:** negativo.
- **Catalasa**: negativa.

- **Bilis esculina:** negativa.
- **CAMP:** positivo.
- **Hidrólisis del Hipurato:** positivo.

CONTROL DE CALIDAD

Microorganismo	Crecimiento
Streptococcus pneumoniae ATCC 6303	Bueno
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	Bueno

REFERENCIAS

- Todd, E. W., and L. F. Hewitt. 1932. A new culture medium for the production of antigenic streptococcal haemolysin. J. Pathol. Bacteriol. 35:973.
- Facklam, R. R., and R. B. Carey. 1985. Streptococci and Aerococci, p. 154-175. In E. H. Lennette, A. Balows, W. J. Hausler, Jr., and H. J. Shadomy (eds.). Manual of clinical microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Updyke, E.L., and M.I. Nickle. 1954. A dehydrated medium for the preparation of type specific extracts of group A streptococci. Appl. Microbiol. 2:117-118.
- 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.

PRESENTACIÓN

Todd-Hewitt Caldo (Colistín-Nalidíxico):

Envase de 10 frascos x 10 ml.	COD B08793
Envase de 6 frascos x 50 ml.	COD B08795
Envase de 6 frascos x 100 ml.	COD B08797

Producto elaborado por Laboratorios W. Brizuela S.A.
Falucho 59 (X5002HMA) - Córdoba, Argentina.
info@brizuela-lab.com.ar
Producto autorizado por ANMAT Disp. N° PM-008-1.
Director Técnico: Bioq. Marcelo Brizuela.