



BBL Brain Heart Infusion
BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride



L007440 • Rev. 12 • Setembro 2014

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE

I INTRODUÇÃO

O Brain Heart Infusion (BHI) é um meio líquido de utilização geral para cultura de várias espécies de bactérias e fungos. O Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride é utilizado para diferenciar os enterococos dos estreptococos do grupo D que não são enterococos.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. A partir de culturas em **Trypticase Soy Broth**, com 24 a 48 h, prepare diluições para utilizar como inóculos.
 - b. Inoculação de meios
 - 1) Para o BHI, inocule os tubos das amostras de teste com uma diluição de cada uma das culturas. A diluição deve conter uma quantidade inferior ou igual a 1000 UFC. Os volumes de enchimento superiores a 5 mL devem ser inoculados com 1,0 mL. Os volumes de enchimento inferiores ou iguais a 5 mL devem ser inoculados com 0,1 mL.
 - 2) Para o BHI with 6.5% Sodium Chloride, utilize uma ansa calibrada de 0,01 mL para inocular os tubos das amostras de teste utilizando diluições de 10^{-1} de culturas em **Trypticase Soy Broth** com 18 a 24 h.
 - c. Incube os tubos com as tampas desapertadas a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$, numa atmosfera aeróbia.
2. Examine os tubos de Brain Heart Infusion às 24 e 48 h, verificando se existe crescimento. Examine os tubos de BHI with 6.5% Sodium Chloride após 18 a 24 h, verificando se existe crescimento e se ocorreu selecção.
3. Resultados esperados
 - a. Brain Heart Infusion
Microrganismos de controlo do CLSI (Estirpes ATCC)
**Escherichia coli* Crescimento
(25922)
**Staphylococcus aureus* Crescimento
(25923)
Estirpes adicionais utilizadas:
Pseudomonas aeruginosa Crescimento
ATCC 27853
Enterococcus faecalis Crescimento
ATCC 29212
Streptococcus pyogenes Crescimento
ATCC 19615
 - b. BHI with 6.5% Sodium Chloride
**Enterococcus faecalis* Crescimento
ATCC 29212
**Streptococcus gallolyticus* Ausência de crescimento
ATCC 9809

*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os tubos, conforme descrito na secção "Deterioração do produto".
2. Examine visualmente os tubos representativos, para assegurar que eventuais defeitos físicos não irão interferir com a utilização.
3. Incube os tubos representativos não inoculados entre 20 a 25°C e 30 a 35°C , e examine-os após 7 dias, verificando se existe contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O Brain Heart Infusion (BHI – Infusão de cérebro coração) é um meio líquido de utilização geral utilizado para cultura de microrganismos exigentes e não exigentes, incluindo bactérias anaeróbias e aeróbias, a partir de inúmeros materiais clínicos e não clínicos.

O meio líquido que contém cloreto de sódio a 6,5% é utilizado para diferenciar os enterococos dos estreptococos do grupo D não enterococos.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

O Meio líquido BHI é utilizado para cultura de uma grande variedade de microrganismos, incluindo bactérias, leveduras e fungos.¹

O BHI com cloreto de sódio a 6,5% é utilizado para diferenciar os enterococos (p. ex., *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* e *E. avium*) de bactérias que não sejam enterococos (*S. gallolyticus* e *S. equinus*), através do teste de tolerância ao sal a 6,5%.²

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O Meio líquido BHI é um meio de cultura nutritivo, tamponado, que contém infusões de tecido cerebral e cardíaco e peptonas para fornecer proteínas e outros nutrientes necessários para sustentar o crescimento de microrganismos exigentes e não exigentes. Na formulação que contém cloreto de sódio a 6,5%, o sal actua como um agente de diferenciação e/ou selectivo, interferindo com a permeabilidade da membrana e com os equilíbrios osmótico e electrocinético dos microrganismos intolerantes ao sal.¹

VII REAGENTES

Brain Heart Infusion

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Cérebro coração, infusão de (sólidos).....	6,0 g
Digerido péptico de tecidos animais	6,0 g
Cloreto de sódio.....	5,0 g
Dextrose	3,0 g
Digerido pancreático de gelatina	14,5 g
Fosfato dissódico.....	2,5 g

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

O Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride, além dos ingredientes acima listados, contém 60 g/L de cloreto de sódio.

Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Deverá ser usado extremo cuidado ao fazer o relatório dos resultados de uma coloração Gram directa e/ou outra coloração microbiológica directa em amostras de tecidos processados com este meio, devido à possível presença de organismos não viáveis no meio de cultura.

Os tubos com tampas apertadas devem ser abertos com cuidado, para evitar lesões devido a quebra do vidro.

Nas amostras podem existir microorganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"³⁻⁶ e as linhas de orientação da instituição. Após a utilização e antes de serem eliminados, esterilize em autoclave os tubos preparados, recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

Instruções de armazenamento

Após a recepção, armazenar os tubos em local escuro entre 2 e 25°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. Os tubos com meio que forem armazenados conforme indicado no rótulo até ao momento imediatamente anterior à sua utilização, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante os períodos de incubação recomendados. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto

Não utilizar tubos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secagem ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser preparadas utilizando várias técnicas. Para obter informações pormenorizadas, consulte os textos apropriados.^{7,8} As amostras devem ser obtidas antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido

Brain Heart Infusion ou
Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Material necessário mas não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento do teste

Utilize técnicas assépticas.

Com amostras líquidas, os meios em tubo devem ser inoculados com uma ou duas gotas da amostra, utilizando uma pipeta estéril. As amostras em zaragatoas podem ser introduzidas no meio líquido após a inoculação do meio em placa.

A redução do meio líquido para incubação anaeróbia deve ser efectuada antes da incubação, colocando os tubos com as tampas desapertadas em condições anaeróbias, durante 18 a 24 h, antes da utilização. Uma forma fácil e eficiente de obter condições anaeróbias adequadas é através da utilização do sistema anaeróbio **BD GasPak EZ**.

Em alternativa, a redução do meio líquido pode ser efectuada imediatamente antes da utilização, fervendo os tubos com as tampas desapertadas em banho-maria*, arrefecendo-os em seguida à temperatura ambiente, com as tampas apertadas, antes da inoculação.

Inocule ligeiramente o meio líquido com NaCl a 6,5% com uma ou duas colónias de bactérias suspeitas. Incube em atmosfera aeróbia, a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, dum dia para o outro. Verifique se existe crescimento; se os testes forem negativos, volte a incubar durante mais 24 h.

***NOTA:** Não se recomenda a utilização do forno de microondas.

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação europeus e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as normas do CLSI e os regulamentos da CLIA que dizem respeito a este assunto, para obter orientações sobre práticas de controlo de qualidade apropriadas.

X RESULTADOS

O crescimento nos tubos é indicado pela presença de turvação comparada com um controlo não inoculado.

Se houver crescimento, as culturas devem ser examinadas através de coloração Gram e deve ser efectuada uma repicagem em meios apropriados (p. ex., placa de **Trypticase** Soy Agar com sangue ovino a 5% (TSA II) e/ou placa de Ágar de chocolate II, placa de Ágar EMB ou de Ágar MacConkey II. Em caso de suspeita de anaeróbios, as repicagens devem ser incubadas em ambiente anaeróbio como, por exemplo, num sistema anaeróbio **GasPak EZ**.

Os enterococos crescerão no meio líquido com NaCl a 6,5% no prazo de 24 a 48 h. Os estreptococos do grupo D não enterococos não crescerão no meio após 48 h de incubação.²

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Para a identificação, os microrganismos devem ser uma cultura pura. Para uma identificação final, devem ser efectuados testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.⁷⁻⁹

Os meios de cultura muitas vezes contêm microrganismos mortos derivados de constituintes do meio, que poderão ser visíveis em esfregaços dos meios de cultura. Outras fontes de microrganismos mortos visíveis após a coloração Gram incluem os reagentes de coloração, o óleo de imersão, as lâminas de vidro e as amostras utilizadas para inoculação. Se houver dúvidas sobre

a validade da coloração Gram, a cultura deverá ser novamente incubada durante uma a duas horas e o teste deverá ser repetido antes de ser apresentado um relatório.

Foram isoladas estirpes de outros cocos Gram-positivos catalase-negativos, ou seja, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* e *Vagococcus* a partir de infecções em humanos. Portanto, não poderá ser efectuada uma identificação presuntiva de enterococos apenas com base na reacção de bÍlis-esculina e no crescimento em meio líquido com NaCl a 6,5%.¹⁰

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Brain Heart Infusion

Antes de serem comercializados, todos os lotes de Brain Heart Infusion são testados relativamente às características do desempenho. Utilizando uma pipeta estéril, inócle amostras representativas do lote com 0,1 mL (para volumes de enchimento inferiores ou iguais a 5 mL) ou 1,0 mL (para volumes de enchimento superiores a 5 mL) de culturas com 1000 Unidades Formadores de Colónia (UFC) ou menos de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615) obtidas em **Trypticase** Soy Broth ou Thioglycollate Medium, Enriched. Os tubos são incubados com as tampas desapertadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, e devem ser lidos após 18 a 24 h e 42 a 48 h, verificando se existe crescimento. Todas as culturas exibem crescimento moderado a intenso no prazo de 48 h.

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Antes de serem comercializados, todos os lotes de Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride são testados relativamente às características do desempenho. Utilizando uma ansa calibrada de 0,01 mL, são inoculadas amostras representativas do lote com diluições de 10^{-1} de culturas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e *Streptococcus gallolyticus* (ATCC 9809) obtidas em **Trypticase** Soy Broth. Os tubos são incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ e devem ser lidos após 18 a 24 h e 42 a 48 h, verificando se existe crescimento. O *E. faecalis* exibe um crescimento moderado a intenso, enquanto que o *S. gallolyticus* é completamente inibido.

Além disso, amostras representativas são testadas quimicamente através da titulação com nitrato de prata para verificação do teor em cloreto de sódio. A percentagem de cloreto de sódio calculada é de 6,0 a 7,0.

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat.	Descrição
221778	BD BBL Brain Heart Infusion, 0,5 mL, caixa com 100 tubos K
297769	BD BBL Brain Heart Infusion, 2 mL, caixa com 100 tubos K
221812	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, emb. com 10 tubos K
221813	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, caixa com 100 tubos K
220837	BD BBL Brain Heart Infusion, 8 mL, caixa com 100 tubos K
221785	BD BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride, emb. com 10 tubos K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation- cultivation-identification-maintenance of medial bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Pratt-Rippin, K., and M. Pezzlo. 1992. Identification of commonly isolated aerobic gram-positive bacteria, p. 1.20.1-1.20.47. In H. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller (ed.). 2007. Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 12th ed. Mosby, Inc., St. Louis.

9. 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.
10. Facklam, R.R., D.F. Sahm, and L.M. Teixeira. 1999. Enterococcus, p. 297-305. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou 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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.