



BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

USO PREVISTO

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 (agar sangre Brucella BD con hemina y vitamina K₁) es un medio altamente nutritivo para el aislamiento y cultivo de anaerobios estrictos a partir de muestras clínicas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 es una modificación del agar Brucella suplementado con hemina y vitamina K1 para favorecer el crecimiento de anaerobios exigentes, en especial *Bacteroides*, *Prevotella* y *Porphyromonas* cuando se incubaba en atmósfera anaerobia¹⁻³. Se utiliza para el aislamiento de anaerobios estrictos a partir de muestras clínicas. También se utiliza para análisis de sensibilidad de anaerobios con el método E test⁴⁻⁶.

En **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**, las peptonas y el extracto de levadura, junto con la glucosa, suministran los nutrientes. El bisulfito sódico reduce el potencial redox a un intervalo adecuado para los anaerobios estrictos. Se ha demostrado que la hemina y la vitamina K1 son necesarias para favorecer el crecimiento de determinados anaerobios estrictos⁷. La sangre de carnero proporciona nutrientes adicionales y se utiliza para detectar las reacciones hemolíticas.

REACTIVOS

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

Fórmula* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	10,0 g
Digerido péptico de tejido animal	10,0
Extracto de levadura	2,0
Glucosa	1,0
Cloruro sódico	5,0
Bisulfito sódico	0,1
Hemina	0,005
Vitamina K1	0,01
Agar	15,0
Sangre de carnero, desfibrinada	5%

pH 7,2 ± 0,2

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

PRECAUCIONES

IVD . Solamente para uso profesional.

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas 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 las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura entre 2 y 8 °C, envueltas en su envase original, hasta justo antes de usarlas. Evitar la congelación y el calentamiento excesivo. Las placas pueden inocularse hasta su fecha de caducidad (ver la etiqueta en el paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Las placas de grupos de 10 placas ya abiertos pueden usarse durante una semana siempre que se almacenen en un lugar limpio a una temperatura entre 2 y 8 °C.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar durante 48 – 72 h en una atmósfera anaerobia (por ejemplo, el sistema anaerobio **BD GasPak**) a 35 – 37 °C.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crecimiento de bueno a excelente, colonias de color gris
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Crecimiento de bueno a excelente, colonias grandes, con lóbulos, de color gris a blanco, beta hemólisis (zona doble).
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Crecimiento de bueno a excelente, colonias de color gris a blanco rodeadas por zonas de color gris oscuro
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Crecimiento de bueno a excelente, colonias blancuzcas
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Crecimiento de regular a bueno; colonias sucias, de color blancuzco a marrón grisáceo
Sin inocular	Entre rojo y rojo oscuro (color sangre)

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

Materiales no suministrados

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

Tipos de muestras

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 es un medio general para el aislamiento y cultivo de anaerobios estrictos a partir de todo tipo de muestras (véase también **CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**).

Emplear las técnicas aprobadas para la recogida y el transporte de muestras anaerobias⁸⁻¹⁰. Se deben utilizar medios de transporte adecuados, por ejemplo, **BD Port-A-Cul**.

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 también se utiliza para las pruebas de sensibilidad de anaerobios estrictos con el sistema E test, que requiere el uso de cultivos puros⁴⁻⁶.

Procedimiento de análisis

Extender la muestra inmediatamente después de recibida, mediante una técnica de extensión aprobada, en **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**. Inmediatamente después de extender la muestra, colocar las placas en jarras anaerobias provistas de atmósfera anaerobia. Se recomienda utilizar jarras **BD GasPak** y sobres de H₂/CO₂ **BD GasPak** junto con el catalizador. Incubar durante 2 – 3 días o más, en caso necesario, a 35 – 37 °C.

Independientemente del sistema anaerobio utilizado, es importante incluir un indicador de anaerobiosis tal como el indicador anaerobio desechable **BD GasPak**.

Si las muestras con flora mixta se extienden en el medio, se recomienda incluir además medios selectivos tales como **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** y/o **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**. Asimismo, en la muestra podrían estar presentes anaerobios facultativos. Por consiguiente, se recomienda incluir siempre un medio aerobio (tal como **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) cuando se realizan cultivos primarios. Esta placa se incuba en atmósfera aerobia enriquecida con dióxido de carbono junto con los cultivos anaerobios⁸. Permite la detección de los organismos facultativos en la muestra.

Para el uso de **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** en pruebas de sensibilidad con atmósfera anaerobia con el sistema E test, consultar las referencias o las instrucciones del fabricante⁴⁻⁶.

Resultados

Después de la incubación, se examinan las placas para determinar el crecimiento. Se consideran presuntivamente de anaerobios estrictos las colonias que aparecen en este medio si dichos organismos no crecen en placas de agar sangre incubadas en atmósfera aerobia. Finalmente, el crecimiento en **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** se compara con el crecimiento de los otros medios. Si se encuentran presentes cultivos mixtos de anaerobios estrictos y facultativos, se deben realizar subcultivos apropiados de medios anaerobios en medios no selectivos, incubados en atmósferas aerobia y anaerobia, con el fin de confirmar que el aislado es un anaerobio estricto.

Se requiere un examen adicional bioquímico o al microscopio para lograr la identificación de los géneros y las especies de los anaerobios estrictos. Consultar los textos apropiados para más información, incluidos los procedimientos de identificación^{6,8,9,11}.

Para leer los resultados del sistema E test obtenidos en este medio, consultar las referencias o las instrucciones del fabricante⁴⁻⁶.

CARACTERISTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

En **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**, que es uno de los medios estándar no selectivos para el aislamiento de anaerobios estrictos, crecen *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, bacilos no formadores de esporas estrictamente anaerobios (por ejemplo, el antiguo género *Eubacterium*), *Mobiluncus*, *Actinomyces* y muchos otros^{6,8-11}.

Además, se utiliza para las pruebas de sensibilidad con el método de E test⁴⁻⁶.

Resultados de rendimiento¹²

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 se evaluó internamente con aislados clínicos y cepas de colección de las siguientes especies anaerobias estrictas, que se compararon con **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** como medio de referencia: *Bacteroides fragilis*, *B. distasonis*, *Prevotella bivia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas levii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Campylobacter (Bacteroides) gracilis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium perfringens*, *Mobiluncus mulieris*, *Eggerthella lenta (Eubacterium lentum)*. Ambos medios se inocularon con de 10^3 a 10^4 UFC por placa y se incubaron en atmósfera anaerobia durante 3 días. El número de colonias en el medio de prueba fue igual o superior que el registrado en el medio de referencia de la prueba para todas las cepas analizadas.

Limitaciones del procedimiento

Tener en cuenta que la velocidad de crecimiento de los anaerobios estrictos varía considerablemente: Mientras que *Bacteroides fragilis* crece bien después de 24 horas, *Mobiluncus* o cepas de *Porphyromonas* necesitan 4 – 5 días y *Actinomyces* puede necesitar 1 – 3 semanas para producir colonias bien visibles. Si los cultivos son negativos después de 2 – 3 días de incubación, volver a incubar en atmósfera anaerobia durante 2 – 3 días más. Si se sospecha *Actinomyces*, se deben inocular placas de cultivo de este medio y de otros (por ejemplo, **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) y luego inspeccionar después de 1, 2 y finalmente 3 semanas de incubación.

Este medio no es específicamente selectivo para anaerobios estrictos; también crecen los organismos facultativos. Por consiguiente, es importante comparar el resultado de los cultivos anaerobios con el de una placa incubada en atmósfera aerobia si se obtienen cultivos mixtos.

REFERENCIAS

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.

2. 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.
3. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 368. In E.H. Lennette, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Citron, D.M., et al. 1991. Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. J. Clin. Microbiol. 29: 2197-2203.
5. Church, D.L., et al. 1996. Metronidazole susceptibility and the presence of hydrogenase in pathogenic bacteria.
6. Citron, D.A., and D.W. Hecht. 2003. Susceptibility test methods: anaerobic bacteria. 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.
7. 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.
8. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
9. 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.
10. Murray, P.R., and D.M. Citron. 1991. General processing of specimens for anaerobic bacteria. In: A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Data on file. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Germany.

ENVASE/DISPONIBILIDAD

BD Brucella Blood Agar With Hemin And Vitamin K1

Nº de cat. 255509

Medios en placa listos para usar, 20 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

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



Becton Dickinson GmbH

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

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

E test is a registered trademark of AB Biodisk, Solna, Sweden

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2011D