



**BBL Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood
BBL Brain Heart Infusion Agar with 10% Sheep Blood,
Chloramphenicol and Gentamicin
BBL Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin**

8806371 • Rev. 03 • abril 2015

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

Estos medios se utilizan en procedimientos cualitativos para el aislamiento y el cultivo de hongos patógenos y no patógenos a partir de muestras clínicas y no clínicas.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Para *C. albicans*, *E. coli* y *S. aureus*, inocular por estrías 1 µL (0,001 mL) procedente de un cultivo de 4 – 5 h de caldo de cultivo **Trypticase** Soy Broth diluido para obtener 10⁶ – 10⁷ UFC/mL.
 - b. Para el resto de los organismos, inocular directamente de una placa de reserva utilizando un cultivo fúngico fresco (de un máximo de un mes de edad).
 - c. Incluir Sabouraud Dextrose Agar como control para todos los organismos.
2. Incubar todos los tubos a 20 – 25 °C.
3. Examinar a intervalos durante un máximo de 7 días para comprobar el crecimiento, el color de las colonias y la selectividad.
4. Resultados previstos

Medio	Organismos	ATCC	Recuperación	Color de las colonias
BHI Sheep Blood Agar	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Crecimiento de mediano a denso	De blanco a crema a marrón claro
	* <i>Candida albicans</i>	60193	Crecimiento de mediano a denso	De blanco a crema
	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Crecimiento de mediano a denso	De blanco a crema/amarillo
BHI Sheep Blood Agar with Chloramphenicol and Gentamicin	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Crecimiento de mediano a denso	De blanco a crema a marrón claro
	* <i>Candida albicans</i>	10231	Crecimiento de mediano a denso	De blanco a crema
	* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibido	N/A
	* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Inhibido	N/A
Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Crecimiento de mediano a denso	De blanco a crema/amarillo
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Inhibido	N/A
	* <i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Crecimiento de mediano a denso	N/A
	* <i>Candida albicans</i>	10231	Crecimiento de mediano a denso	De blanco a crema, pastoso
	* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibido	N/A
	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Crecimiento de mediano a denso	De blanco a crema/amarillo, aterciopelado

*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos como se describe en la sección "Deterioro del producto".
2. Examinar visualmente los tubos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Para Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin, determinar el pH potenciométricamente a temperatura ambiente para verificar el cumplimiento de la especificación de 7,4 ± 0,2.
4. Incubar tubos representativos no inoculados a 33 – 37 °C y 20 – 25 °C durante 72 h y examinar para detectar contaminación microbiana.

INFORMACION SOBRE EL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

Estos medios se utilizan en procedimientos cualitativos para el aislamiento y el cultivo de hongos patógenos y no patógenos a partir de muestras clínicas y no clínicas.

V RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Brain Heart Infusion (BHI) Agar (agar de infusión de cerebro y corazón) es un medio de uso general adecuado para la recuperación primaria de hongos¹. Se recomienda añadir sangre de carnero para mejorar la recuperación de hongos dimórficos patógenos¹.

Se incorporan agentes antimicrobianos, incluidos cloranfenicol, cloranfenicol con cicloheximida (CC) y gentamicina para mejorar la recuperación de hongos patógenos a partir de muestras muy contaminadas con bacterias y hongos saprofitos¹.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

BHI Agar está formado por infusiones de tejido de cerebro y corazón, peptonas y dextrosa con el fin de proporcionar nutrientes necesarios para favorecer el crecimiento de hongos. La sangre desfibrinada de carnero suministra nutrientes adicionales para favorecer el aislamiento y cultivo de especies dimórficas.

Al suplementar el BHI Agar con agentes antimicrobianos, se aumenta la recuperación de hongos patógenos a partir de muestras clínicas debido a la inhibición de bacterias. La gentamicina inhibe las bacterias gram negativas. El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro que inhibe bacterias gram positivas y gram negativas. La cicloheximida es un agente antifúngico activo principalmente contra los hongos saprofitos, sin inhibir las levaduras ni los dermatofitos.

VII REACTIVOS

BHI Agar

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Infusión cerebro corazón de (sólidos)	8,0 g
Digerido péptico de tejido animal	5,0 g
Digerido pancreático de caseína	16,0 g
Dextrosa	2,0 g
Cloruro sódico	5,0 g
Fosfato disódico	2,5 g
Agar	13,5 g

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

BHI Sheep Blood Agar está formado por los elementos anteriores con 5% de sangre desfibrinada de carnero por litro.

BHI Sheep Blood Agar with Chloramphenicol and Gentamicin está formado por agar BHI con 0,05 g/L de cloranfenicol, 0,05 g/L gentamicina y 10% de sangre desfibrinada de carnero por litro.

Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin está formado de agar BHI con 0,05 g/L de cloranfenicol, 0,5 g/L de cicloheximida, 0,05 g/L de gentamicina y 10% de sangre de carnero por litro.

Advertencias y precauciones: Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"²⁻⁵ y las directrices del centro. Antes de desecharlos, esterilizar en autoclave los recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado.

Instrucciones de almacenamiento: Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro según las instrucciones que figuran en la etiqueta. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. No abrir hasta que se vayan a utilizar. Reducir al mínimo la exposición a la luz. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante un máximo de 6 semanas. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto: No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, precipitado, evaporación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII. RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Para más detalles sobre la recogida y la manipulación de muestras, consultar los textos correspondientes^{1,6-8}.

IX PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood, Brain Heart Infusion Agar with 10% Sheep Blood, Chloramphenicol and Gentamicin o Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis: Cumplir las técnicas asépticas.

Inocular el medio tan pronto como sea posible después de recibir la muestra en el laboratorio. Extender la muestra en el medio con un asa de inoculación estéril para obtener colonias aisladas. Consultar los textos correspondientes para obtener información acerca del procesamiento e inoculación de muestras tales como tejidos, piel, cabello, uñas, etc.^{1,6-9}.

Para el aislamiento de hongos causantes de micosis cutáneas, se debe inocular un medio no selectivo de uso general junto con un medio selectivo. Incubar un conjunto de tubos a 25 – 30 °C y otro duplicado a 35 – 37 °C. Examinar todos los cultivos al menos semanalmente para determinar el crecimiento y mantener los cultivos durante 4 – 6 semanas antes de considerar el resultado como negativo.

Control de calidad del usuario: Véase "Procedimientos de control de calidad".

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones pertinentes del CLSI y la normativa de la CLIA para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X RESULTADOS

Examinar si este medio presenta crecimiento de especies fúngicas y tomar nota del color y la morfología.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Para la identificación de los microorganismos, éstos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas, serológicas y/o de nutrición para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados⁶⁻¹¹.

Sólo en raras ocasiones es posible detectar en un único medio todos los organismos de importancia potencial en una muestra. Los agentes de los medios selectivos pueden inhibir algunas cepas de las especies deseadas o permitir el crecimiento de una especie que supuestamente debían inhibir, en especial si la especie está presente en grandes cantidades en la muestra. Las muestras cultivadas en medios selectivos, por consiguiente, también deben cultivarse en medios no selectivos para obtener información adicional y favorecer la recuperación de patógenos potenciales.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood se analizan para determinar las características específicas del producto. Se analizan muestras del lote con *Blastomyces dermatitidis* ATCC 56218, *Candida albicans* ATCC 60193 y *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, inoculados directamente mediante extensión sobre la superficie del medio. Los tubos se inoculan con las tapas flojas a 20 – 27 °C durante un máximo de siete días. Se observa crecimiento de promedio a denso con todos los organismos.

Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin se analizan para determinar las características específicas del producto. Se analizan muestras del lote con *Blastomyces dermatitidis* ATCC 56218, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, inoculados directamente mediante extensión sobre la superficie del medio (para *C. albicans* y *E. coli*, se utilizan suspensiones de solución salina normal con una concentración de 10^3 – 10^4 UFC). Los tubos se inoculan con las tapas flojas a 20 – 27 °C durante un máximo de siete días. Se observa crecimiento denso con *B. dermatitidis*, *C. albicans* y *T. mentagrophytes*. Se observa crecimiento de parcial a completo con *E. coli*.

XIII DISPONIBILIDAD


Nº de cat. Descripción

297199	BD BBL Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood Slants, pqt. de 10 tubos de tamaño A CE
296067	BD BBL Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood Slants, caja de 100 tubos de tamaño A
295756	BD BBL Brain Heart Infusion Agar with 10% Sheep Blood, Chloramphenicol and Gentamicin Slants, caja de 100 tubos de tamaño A
296358	BD BBL Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin Slants, pqt. de 10 tubos de tamaño A

XIV REFERENCIAS

1. Merz, W.G., and G.D. Roberts. 1995. Detection and recovery of fungi from clinical specimens, p. 709-721. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Haley, L.D., H. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech 11, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical mycology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
9. R.C. and J. Kane. 1999. *Trichophyton*, *Microsporium*, *Epidermophyton*, and agents of superficial mycoses, p.1275-1294. 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.
10. Larone, D.H. 1987. Medically important fungi: a guide to identification, 2nd ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
11. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. Mycology, p. 983-1069. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 5th ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o 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 and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD