



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



L007440 • Rev. 12 • Septiembre 2014

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

Brain Heart Infusion (BHI) (infusión de cerebro y corazón) es un medio líquido de uso general para una amplia variedad de especies bacterianas y fúngicas. Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride (Infusión de cerebro y corazón con cloruro sódico al 6,5%) se utiliza para diferenciar enterococos de los estreptococos no enterococos del grupo D.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Preparar diluciones para uso como inóculos a partir de cultivos de caldo de soja **Trypticase** de 24 – 48 h.
 - b. Inoculación del medio
 - 1) Para BHI, inocular los tubos de las muestras de prueba con una dilución de cada cultivo. La dilución debe contener hasta 1.000 UFC. Los volúmenes de llenado de más de 5 mL deben inocularse con 1,0 mL. Los volúmenes de llenado de menos de 5 mL deben inocularse con 0,1 mL.
 - 2) Para BHI con cloruro sódico al 6,5%, inocular los tubos de muestra con diluciones 10^{-1} de cultivo de caldo de soja **Trypticase** de 18–24 h mediante un asa calibrada de 0,01 mL.
 - c. Incubar los tubos con las tapas flojas a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia.
2. Examinar los tubos con infusión de cerebro y corazón a las 24 y 48 h para detectar crecimiento. Examinar los tubos de BHI con cloruro sódico al 6,5% a los 18 – 24 h para detectar crecimiento y selectividad.
3. Resultados previstos
 - a. Infusión de cerebro y corazón
Organismos de control CLSI (cepas ATCC)
**Escherichia coli*Crecimiento
(25922)
**Staphylococcus aureus*Crecimiento
(25923)
Cepas adicionales utilizadas:
Pseudomonas aeruginosa Crecimiento
ATCC 27853
Enterococcus faecalisCrecimiento
ATCC 29212
Streptococcus pyogenesCrecimiento
ATCC 19615
 - b. BHI con cloruro sódico al 6,5%
Enterococcus faecalisCrecimiento
ATCC 29212
**Streptococcus gallolyticus* Sin crecimiento
ATCC 9809

*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. Incubar tubos representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar después de 7 días en busca de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

La infusión de cerebro y corazón BHI es un medio líquido de uso general utilizado para el cultivo de microorganismos exigentes y no exigentes, incluidas las bacterias aerobias y anaerobias, a partir de diversas muestras clínicas y no clínicas.

El medio de caldo que contiene cloruro de sodio al 6,5% se utiliza para diferenciar los enterococos de los estreptococos no enterococos del grupo D.

V RESUMEN Y EXPLICACION

El caldo BHI se utiliza para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos, incluidas bacterias, levaduras y hongos¹.

BHI con cloruro sódico al 6,5% se utiliza para diferenciar los enterococos (por ejemplo, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* y *E. avium*) de las especies de no enterococos (*S. gallolyticus* y *S. equinus*) mediante la prueba de tolerancia a la sal al 6,5%².

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El caldo BHI es un medio de cultivo nutritivo tamponado que contiene infusiones de tejido de cerebro y corazón y peptonas para suministrar proteínas y otros nutrientes necesarios para favorecer el crecimiento de microorganismos exigentes y no exigentes. En la fórmula con cloruro de sodio al 6,5%, la sal actúa como agente de diferenciación o selección, al interferir con la permeabilidad de la membrana y los equilibrios osmótico y electrocinético en los organismos no tolerantes a la sal¹.

VII REACTIVOS

Brain Heart Infusion

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Infusión de cerebro y corazón (sólidos)..... 6,0 g

Digerido péptico de tejido animal..... 6,0 g

Cloruro sódico..... 5,0 g

Dextrosa 3,0 g

Digerido pancreático de gelatina 14,5 g

Fosfato disódico 2,5 g

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

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride contiene 60 g/L de cloruro de sodio además de los componentes enumerados anteriormente.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Se debe tener cuidado al informar de los resultados de la tinción de Gram directa o de otros métodos directos de tinción microbiológica en muestras tisulares procesadas con este medio, debido a la posible presencia de microorganismos no viables en el medio de cultivo.

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"³⁻⁶ y las directrices del centro. Después de su utilización, los tubos preparados, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento

Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 25 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que vayan a utilizarse. 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 los períodos recomendados de incubación. 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, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes^{7,8}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX PROCEDIMIENTO

Material suministrado

Brain Heart Infusion o

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

En las muestras líquidas, inocular los medios en tubos con una o dos gotas de la muestra utilizando una pipeta estéril. Las muestras de torundas pueden insertarse en el caldo después de la inoculación de los medios en placas.

Los medios líquidos para incubación anaerobia deben reducirse antes de la inoculación, colocando los tubos, con las tapas flojas, en condiciones anaerobias durante 18 – 24 h antes de su utilización. Una manera eficaz y fácil de obtener condiciones anaerobias adecuadas es mediante el sistema anaerobio **BD GasPak EZ**.

También se pueden reducir los medios líquidos justo antes de utilizar hirviendo en un baño María* con las tapas flojas y enfriando a temperatura ambiente con las tapas ajustadas antes de la inoculación.

Inocular ligeramente el caldo de NaCl al 6,5% con una o dos colonias de bacterias presuntivas. Incubar en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C de un día para el otro. Examinar si hay crecimiento; volver a incubar las pruebas unas 24 h adicionales.

***NOTA:** No se recomienda utilizar un horno de microondas.

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 de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X RESULTADOS

El crecimiento en los tubos se indica por la presencia de turbidez en comparación con un control sin inocular.

Si se produce crecimiento, los cultivos se deben examinar mediante tinción de Gram y subcultivar en medios adecuados, por ejemplo, una placa de agar de soja **Trypticase** con sangre de carnero al 5% (TSA II) y/o agar Chocolate II, agar EMB o agar MacConkey II. Si se sospechan organismos anaerobios, los subcultivos deben incubarse en atmósfera anaerobia, como en un sistema anaerobio **GasPak EZ**.

Los enterococos crecerán en el caldo de NaCl al 6,5% dentro de las 24 – 48 h. Los estreptococos no enterococos del grupo D no crecen en el medio después de 48 h de incubación².

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados⁷⁻⁹.

Los medios de cultivo a veces contienen organismos muertos que se derivan de los componentes del medio, posiblemente visibles en frotis de medios de cultivo. Otras fuentes de organismos muertos visibles mediante tinción de Gram incluyen los reactivos de tinción,

aceite de inmersión, portaobjetos de vidrio y muestras utilizadas para inoculación. Si no se tiene certeza de la validez de la tinción de Gram, el cultivo debe volverse a incubar durante 1 - 2 horas más y repetirse la prueba antes de emitir un informe.

Se han aislado de infecciones humanas cepas de otros cocos gram positivos con resultado negativo a la catalasa, es decir, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Vagococcus*. Por consiguiente, no es posible la identificación presuntiva de enterococos sobre la base de la reacción de bilis-esculina y el crecimiento en caldo de NaCl al 6,5% solamente¹⁰.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Brain Heart Infusion

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Brain Heart Infusion se analizan para determinar sus características de rendimiento. Con una pipeta estéril, se inoculan muestras representativas del lote con 0,1 mL (para volúmenes de llenado de 5 mL o menos) o 1,0 mL (para volúmenes de llenado más de 5 mL) cultivos enriquecidos de caldo de soja **Trypticase** o medio de tioglicolato, con 1.000 unidades formadoras de colonias (UFC) o menos de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615). Los tubos se incuban con las tapas flojas a 35 ± 2 °C y se efectúa la lectura después de 18 – 24 h y 42 – 48 h para detectar crecimiento. Todos los cultivos muestran crecimiento de moderado a denso dentro de las 48 h.

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Antes de su lanzamiento al mercado, se analizan todos los lotes de Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride para determinar sus características de rendimiento. Con una asa calibrada de 0,01 mL, se analizan muestras representativas del lote con cultivos de caldo de soja **Trypticase** diluidos a 10^{-1} de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) y *Streptococcus gallolyticus* (ATCC 9809). Los tubos se incuban a 35 ± 2 °C y se efectúa la lectura después de 18–24 h y 42 – 48 h para detectar crecimiento. *E. faecalis* muestra crecimiento de moderado a denso, mientras que *S. gallolyticus* se encuentra totalmente inhibido.

Además, las muestras representativas se analizan químicamente mediante titulación de nitrato de plata para determinar el contenido de cloruro de sodio. El porcentaje calculado de cloruro de sodio es de 6,0 a 7,0.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
221778	BD BBL Brain Heart Infusion, 0,5 mL, caja de 100 tubos de tamaño K
297769	BD BBL Brain Heart Infusion, 2 mL, caja de 100 tubos de tamaño K
221812	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, pqt. de 10 tubos de tamaño K
221813	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, caja de 100 tubos de tamaño K
220837	BD BBL Brain Heart Infusion, 8 mL, caja de 100 tubos de tamaño K
221785	BD BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride, pqt. de 10 tubos de tamaño K

XIV REFERENCIAS

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.

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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.