

Ensayo microbiológico

REF**MC0301***20 pruebas*

Frasco de hemocultivo aerobio FA

Se utiliza con el Sistema Automatizado de Hemocultivo para la recuperación y detección cualitativa de microorganismos aerobios y anaerobios facultativos en sangre y otros líquidos corporales normalmente estériles.

Todas las marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

Clave de los símbolos gráficos utilizados

LOT	Código de lote	CAD	Fecha de caducidad
FAB	Fabricante	N	Contenido suficiente para <n> pruebas
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	TEMP	Límite de temperatura
REF	Número de catálogo	i	Consultar las instrucciones de uso
LATEX	Sin látex	NO REUSAR	No reutilizar
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea	SOL	Mantener alejado de la luz solar

OBELIS S.A.
Bd. Général Wahis, 53
1030 Bruselas, Bélgica

AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD
No. 87 Jingbei Yi Road
Zhengzhou, China 450016

CE**IVD**

Asistencia técnica (en inglés): customerservice@autobio.com.cn

Para consultas sobre el producto en idioma local, contacte al distribuidor local.

Introducción

La sangre normalmente es un entorno estéril hasta que se infecta por bacterias [1]. Las bacterias y los hongos pueden entrar al torrente sanguíneo como complicación grave de infecciones (como neumonía o meningitis), durante una cirugía o por catéteres y otros cuerpos extraños introducidos en arterias o venas. La presencia de bacterias u hongos en la sangre se denomina bacteriemia o fungemia. La bacteriemia/fungemia puede tener consecuencias importantes. La respuesta inmunitaria puede causar sepsis y choque séptico, con una alta tasa de mortalidad [2]. Los microorganismos también pueden propagarse por la sangre a otras partes del cuerpo y causar infecciones lejos del foco original, como endocarditis u osteomielitis [3]. El hemocultivo es un cultivo microbiológico de sangre para detectar infecciones que se propagan por el torrente sanguíneo [4]. Las muestras deben obtenerse de sitios de venopunción independientes en lactantes, niños o adultos y procesarse en frascos de hemocultivo mediante un protocolo de incubación en un equipo con monitorización continua [5]. Los frascos emiten señales audibles y/o visuales cuando se detecta crecimiento [6].

Principio de medición

El Sistema Automatizado de Hemocultivo utiliza un sensor colorimétrico para vigilar la presencia y producción de dióxido de carbono (CO2) disuelto en el medio. Si hay microorganismos en la muestra, producen CO2 al metabolizar los sustratos del medio. Cuando el crecimiento produce CO2, el sensor permeable a gases situado en el fondo del frasco cambia de azul verdoso a amarillo. El color más claro aumenta las unidades de reflectancia registradas por el sistema. El instrumento registra la reflectancia cada 10 minutos.

Componentes

1. Frasco de hemocultivo. El frasco desechable de Cultivo Aerobio FA contiene 30 mL de medio y un sensor interno que detecta dióxido de carbono como indicador de crecimiento microbiano. Composición del medio:

Ingrediente	Porcentaje
Triptona	1 % p/v
Peptona de gelatina	1 % p/v
Extracto de levadura	0,45 % p/v
Glucosa	0,3 % p/v
Sulfonato sódico de polianetol (SPS)	0,025 % p/v
Resina	0,5 % p/v

Además contiene otros aminoácidos. Los frascos se preparan con una atmósfera de CO2 en oxígeno, bajo vacío. La composición del medio puede ajustarse para cumplir requisitos específicos de rendimiento.

2. Instrucciones de uso: se incluye una copia.

Materiales necesarios, no incluidos

- Dispositivo para extracción de sangre.
- Unidades para subcultivo.
- Unidades para frotis.
- Guantes desechables.

Instrumentación

Sistema Automatizado de Hemocultivo BC120. Antes del uso, consulte el manual de usuario correspondiente del BC120.

Advertencias y precauciones

- Solo para uso profesional. No reutilizar.
- Siga cuidadosamente las instrucciones de uso. No se garantiza la fiabilidad de los resultados si se desvía de las instrucciones del prospecto.
- Use ropa de protección y guantes desechables al manipular los frascos; lávese las manos después. Manipule los materiales potencialmente contaminados de forma segura conforme a los requisitos locales.
- Siga las pautas estándar para la manipulación y eliminación segura de microorganismos infecciosos durante todos los procedimientos.
- No fume, beba, coma ni use cosméticos en el área de trabajo.
- Evite la contaminación durante la preparación del frasco y la inoculación. La desinfección adecuada de la piel es esencial.
- Introduzca los frascos inoculados en el sistema automatizado lo antes posible. Si se retrasa la carga, manténgalos a temperatura ambiente hasta colocarlos en el equipo.

- Los microorganismos exigentes pueden no crecer o crecer lentamente en el medio FA; podrían requerirse métodos alternativos o incubación prolongada.
- En raras ocasiones, los microorganismos pueden no producir suficiente CO₂ para ser determinados positivos. Un posible factor es la presencia de antibióticos activos en la muestra.
- Realice el ensayo lejos de condiciones ambientales adversas, como gases corrosivos (hipoclorito de sodio, sustancias ácidas o alcalinas, acetaldehído, etc.) o polvo.
- Al subcultivar frascos positivos, tenga precaución: la presión interna puede aumentar por gases del metabolismo microbiano. Libere la presión de forma controlada antes del subcultivo o eliminación.
- Descontamine y deseche los frascos y materiales potencialmente contaminados como residuos infecciosos en un recipiente para riesgo biológico.

Almacenamiento

- Conserve los frascos a 2–25 °C y protegidos de la luz solar directa.
- El frasco es estable hasta la fecha de caducidad impresa. No utilizar después de esa fecha.

Antes del uso

- Revise si hay daños, decoloración, turbidez excesiva o abombamiento. Deseche los frascos defectuosos. El medio debe ser transparente, aunque puede presentar ligera opalescencia o trazas de precipitado por SPS. No confunda opalescencia con turbidez. No use frascos con medio turbio, sensor amarillo o presión excesiva de gas.
- Identifique el frasco con los datos del paciente; los iconos de la etiqueta pueden definirse por el usuario.
- Retire la tapa abatible e inspeccione el frasco.
- Antes de inocular, limpie la parte superior con alcohol y deje secar al aire.
- Inyecte o extraiga asépticamente de 8 a 10 mL de muestra por frasco. Coloque el frasco en el BC120 cuanto antes. Si hay crecimiento visible tras una demora, no lo introduzca en el equipo; realice subcultivo y frotis y trátelo como presuntamente positivo.

Obtención de la muestra

- Recoja las muestras conforme a las prácticas médicas correctas.
- Evite la contaminación durante la preparación e inoculación. La desinfección de la piel y las técnicas estériles son esenciales.
- El volumen habitual de muestra es de 8–10 mL.
- Si utiliza un equipo de aguja y tubo, observe la dirección del flujo sanguíneo al comenzar la extracción.
- El vacío del frasco suele superar los 10 mL; vigile el volumen extraído mediante las marcas graduadas de 5 mL en la etiqueta.
- Cuando haya extraído 8–10 mL, detenga el flujo pinzando el tubo y retire el equipo del frasco.
- Pueden utilizarse volúmenes de hasta 3 mL, pero la recuperación será menor que con volúmenes mayores.

Procedimiento de inoculación directa

- Mantenga el frasco vertical y por debajo del brazo del paciente.
- Recoja la sangre con un equipo de extracción tipo mariposa e inocúlela directamente en el frasco.
- Libere el torniquete cuando la sangre comience a fluir hacia el frasco o antes de que transcurran 2 minutos desde su colocación.
- Si inocula más de un tipo de frasco, inocule primero el aerobio y luego el anaerobio para evitar transferir oxígeno atrapado en el tubo al frasco anaerobio.

Procedimiento de inoculación con jeringa

- Realice la venopunción y transfiera la sangre al frasco conforme a los procedimientos establecidos.
- Para reducir fugas, utilice jeringas con agujas fijadas permanentemente.
- Si inocula varios tipos de frasco, inocule primero el anaerobio y después el aerobio para evitar transferir oxígeno atrapado en la jeringa al frasco anaerobio.
- Transfiera inmediatamente el frasco inoculado al laboratorio.

Procedimiento de medición

- Los frascos se analizan automáticamente cada 10 minutos durante el protocolo.
- El BC120 determina los frascos positivos.
- El sensor no presenta diferencias visuales evidentes entre frascos positivos y negativos; el sistema automatizado determina la diferencia (consulte el manual del BC120).
- Después de cargarlos, mantenga los frascos en el equipo durante 5–7 días o hasta que se indiquen como positivos.
- Consulte el manual del equipo para cargar y descargar los frascos.

Resultado

El software del Sistema Automatizado de Hemocultivo determina los resultados positivos o negativos. No se requiere acción hasta que el instrumento indique un resultado.

Interpretación de resultados

- Los frascos positivos deben someterse a subcultivo y frotis.
- Se recomienda comprobar mediante frotis y/o subcultivo los frascos negativos antes de desecharlos como negativos.
- Si el equipo indica positivo pero el frotis es negativo (posible falso positivo), vuelva a cargar el frasco hasta que haya crecimiento en el subcultivo o se reclasifique como positivo. Los frascos reclasificados como positivos deben someterse a frotis y subcultivo.
- Si al final del período un frasco FA negativo parece visualmente positivo, realice subcultivo y frotis y trátelo como presuntamente positivo.

Subcultivo

- Antes de tomar la muestra, libere el gas acumulado por el metabolismo microbiano.
- Si es posible, realice el muestreo en una cabina de seguridad biológica y use ropa de protección, incluidos guantes y mascarilla.
- Coloque el frasco vertical, desinfecte la parte superior con alcohol y deje secar al aire.
- Introduzca una aguja estéril a través de la parte superior desinfectada.
- Retire la aguja después de liberar la presión y antes de tomar la muestra.
- Introduzca y retire la aguja en línea recta, sin torsión.
- Para maximizar la recuperación, se recomienda comprobar los frascos negativos mediante frotis y/o subcultivo antes de desecharlos.

Procedimiento de control

Se proporciona un Certificado de Análisis con cada caja de frascos. Si se desea, puede realizarse control de calidad del Cultivo Aerobio FA según el documento CLSI M22-A3.

Características de rendimiento

El procedimiento se realizó según el procedimiento de medición con las siguientes cepas ATCC y CMCC a niveles de 1000 UFC por frasco, detectadas como positivas dentro de 72 horas:

Micrococcus luteus CMCC(B)28001; *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Alcaligenes faecalis* ATCC 8750; *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615; *Candida albicans* ATCC 18804; *Haemophilus influenzae* ATCC 19418; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Neisseria meningitidis* ATCC 13090.

Limitaciones del procedimiento

- Evite la contaminación durante la venopunción y la inoculación, ya que puede producir un resultado positivo sin microorganismo clínicamente relevante.
- Los volúmenes inferiores o superiores al recomendado pueden afectar la recuperación o el tiempo de detección. Se recomiendan 10 mL; más de 10 mL no mantiene la proporción óptima con el medio.
- La sangre puede contener antimicrobianos u otros inhibidores que ralenticen o impidan el crecimiento. Cuando sea posible, obtenga la muestra antes de iniciar la terapia antibiótica.
- Inspeccione si hay crecimiento visible, especialmente si se retrasó la carga o incubación. Si lo hay, trate el frasco como positivo y no lo coloque en el sistema para monitorización.
- Algunas cepas pueden ser sensibles al SPS, como *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Peptostreptococcus anaerobius*, lo que puede impedir el crecimiento o reducir el CO₂. Inocular suficiente muestra es clave.
- En raras ocasiones, una cantidad muy elevada de glóbulos blancos puede causar positivos.
- Los microorganismos pueden ser escasos y aparecer intermitentemente; recoja varias muestras consecutivas de cada paciente.
- Si los organismos visibles en el frotis no crecen en medios rutinarios, use medios especiales. Algunas muestras requieren tinciones y medios especializados.
- Algunas cepas de *Streptococcus pneumoniae* pueden sufrir autólisis si no se retiran poco después de la señal positiva.
- Un frotis de Gram de un frasco negativo puede contener microorganismos no viables procedentes del medio, reactivos, aceite de inmersión o portaobjetos, lo que puede generar falsos positivos.

Referencias bibliográficas

1. Ochei y cols. *Pus Abscess and Wound Drain*. Medical Laboratory Science: Theory and Practice. Tata McGraw-Hill Education, 2000: 622.
2. Singer M, Deutschman CS y cols. Definiciones internacionales de consenso para sepsis y choque séptico (Sepsis-3). *JAMA*. 315(8): 801–810.
3. Sligl W, Taylor y cols. Bacteriemia nosocomial por gramnegativos en UCI: epidemiología, susceptibilidad y resultados. *Int J Infect Dis*. 10(4): 320–325.
4. Wilson ML; CLSI. *Principles and procedures for blood cultures*. Guía aprobada, 2007.
5. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detección de infecciones del torrente sanguíneo en adultos. *J Clin Microbiol*. 2007;45:3546–3548.
6. Kirn TJ, Weinstein MP. Actualización sobre hemocultivos. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(6).
7. CLSI. Control de calidad de medios de cultivo microbiológico preparados comercialmente. CLSI M22-A3, 2004.

Fabricante

Autobio Diagnostics Co., Ltd.

No. 87 Jingbei Yi Road, National Eco & Tech Development Area, Zhengzhou, China 450016.

Representante autorizado en la Comunidad Europea: OBELIS S.A., Bd. Général Wahis, 53, 1030 Bruselas, Bélgica.

Asistencia técnica: customerservice@autobio.com.cn (en inglés). Para consultas en idioma local, contacte al distribuidor local.