



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 • April 2015

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Diese Medien werden bei qualitativen Verfahren zur Isolierung und Kultivierung pathogener und nichtpathogener Pilze aus klinischen und nichtklinischen Proben verwendet.

II TESTDURCHFÜHRUNG

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Für *C. albicans*, *E. coli* und *S. aureus* ein Inokulat von 1 µL (0,001 mL) von 4 – 5 h alten Kulturen von **Trypticase Soy Broth** ausstreichen, die auf 10^6 – 10^7 KBE/mL verdünnt wurden.
 - b. Die übrigen Organismen anhand einer frischen Pilzkultur (bis zu einem Monat alt) direkt von einer Stammplatte inokulieren.
 - c. Sabouraud Dextrose Agar-Kontrollen für alle Organismen mitführen.
2. Alle Röhrchen bei 20 – 25 °C inkubieren.
3. Platten in Intervallen von bis zu 7 Tagen auf Wachstum, Koloniefarbe und Selektivität überprüfen.
4. Zu erwartende Ergebnisse

Medium	Organismen	ATCC	Isolierung	Koloniefarbe
BHI Sheep Blood Agar	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Mäßiges bis starkes Wachstum	Weiß bis cremefarben bis gelbbraun
	* <i>Candida albicans</i>	60193	Mäßiges bis starkes Wachstum	Weiß bis cremefarben
	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Mäßiges bis starkes Wachstum	Weiß bis cremefarben/gelb
BHI Sheep Blood Agar with Chloramphenicol and Gentamicin	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Mäßiges bis starkes Wachstum	Weiß bis cremefarben bis gelbbraun
	* <i>Candida albicans</i>	10231	Mäßiges bis starkes Wachstum	Weiß bis cremefarben
	* <i>Escherichia coli</i>	25922	Gehemmtes Wachstum	N. z.
	* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Gehemmtes Wachstum	N. z.
Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Mäßiges bis starkes Wachstum	Weiß bis cremefarben/gelb
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Gehemmtes Wachstum	N. z.
	* <i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Mäßiges bis starkes Wachstum	N. z.
	* <i>Candida albicans</i>	10231	Mäßiges bis starkes Wachstum	Weiß bis cremefarben, pastös
	* <i>Escherichia coli</i>	25922	Gehemmtes Wachstum.	N. z.
	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Mäßiges bis starkes Wachstum	Weiß bis cremefarben/gelb, samtige

* Empfohlener Organismusstamm für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Röhrchen untersuchen, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben.
2. Repräsentative Röhrchen sichtprüfen, um sicherzustellen, dass ihre Nutzung nicht durch bereits vorhandene Beschädigungen beeinträchtigt werden kann.
3. Den pH-Wert für Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin potentiometrisch bei Raumtemperatur bestimmen. Er sollte bei $7,4 \pm 0,2$ liegen.
4. Nicht inokulierte repräsentative Röhrchen 72 h lang bei 33 – 37 °C und 20 – 25 °C inkubieren und auf mikrobielle Kontamination untersuchen.

PRODUKTINGFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Diese Medien werden bei qualitativen Verfahren zur Isolierung und Kultivierung pathogener und nichtpathogener Pilze aus klinischen und nichtklinischen Proben verwendet.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Brain Heart Infusion (BHI) Agar ist ein Mehrzweckmedium zur primären Isolierung von Pilzen.¹ Der Zusatz von Schafblut wird zur Verbesserung der Isolierung pathogener dimorpher Pilze empfohlen.¹

Antimikrobielle Wirkstoffe, darunter Chloramphenicol, Chloramphenicol in Kombination mit Cycloheximid (CC) und Gentamicin wurden in einer Vielzahl von Kombinationen hinzugefügt, um die Gewinnung pathogener Pilze aus Proben zu verbessern, die stark mit Bakterien und saprophytischen Pilzen kontaminiert sind.¹

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

BHI Agar besteht aus Infusionen mit Hirn- und Herzgewebepeptonen und Dextrose zur Bereitstellung der für das Pilzwachstum erforderlichen Nährstoffe. Defibriniertes Schafblut liefert weitere Nährstoffe zur Förderung der Isolierung und Kultivierung dimorpher Spezies.

Durch Zugabe von antimikrobiellen Wirkstoffen zum BHI-Agar werden Bakterien gehemmt. Dadurch wird die Isolierung pathogener Pilze aus klinischen Proben gefördert. Gentamicin hemmt gramnegative Bakterien. Chloramphenicol ist ein Breitbandantibiotikum, das sowohl grampositive als auch gramnegative Bakterien hemmt. Cycloheximid ist ein Fungizid, das primär gegen saprophytische Pilze wirkt, aber das Wachstum von Hefen oder Dermatophyten nicht hemmt.

VII REAGENZIEN

BHI Agar

Ungefähre Zusammensetzung* pro Liter destilliertes Wasser

Hirn-Herz-Infusion (aus Frischgewebe).....	8,0 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	5,0 g
Pankreatisch abgebautes Casein	16,0 g
Dextrose.....	2,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
Dinatriumphosphat	2,5 g
Agar.....	13,5 g

*Nach Bedarf auf die geforderten Testkriterien abgestimmt und/oder ergänzt.

BHI Sheep Blood Agar besteht aus den oben aufgeführten Bestandteilen mit 5 % defibriniertem Schafblut pro Liter.

BHI Sheep Blood Agar with Chloramphenicol and Gentamicin besteht aus BHI-Agar mit 0,05 g/L Chloramphenicol, 0,05 g/L Gentamicin und 10 % defibriniertem Schafblut pro Liter.

Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin besteht aus BHI-Agar mit 0,05 g/L Chloramphenicol, 0,5 g/L Cycloheximid, 0,05 g/L Gentamicin und 10 % Schafblut pro Liter.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen: *In-vitro*-Diagnostikum.

Röhrchen mit fest sitzenden Verschlusskappen sind vorsichtig zu öffnen, um Verletzungen auf Grund von Glasbruch zu vermeiden.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z. B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“²⁻⁵ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien vor dem Entsorgen im Autoklaven sterilisieren.

Aufbewahrung: Röhrchen nach Erhalt gemäß der Anleitung auf dem Etikett im Dunkeln lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. Gemäß der Kennzeichnung aufbewahrte Medien in Röhrchen können bis zum Verfallsdatum inokuliert und bis zu 6 Wochen inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts: Röhrchen bei Anzeichen von Kontamination durch Mikroorganismen, Verfärbung, Niederschlag, Verdunstung oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Einzelheiten zur Probenentnahme und -handhabung sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{1,6-8}

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood, Brain Heart Infusion Agar with 10% Sheep Blood, Chloramphenicol and Gentamicin oder Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren: Aseptisch vorgehen.

Das Medium nach Eintreffen der Probe im Labor schnellstmöglich inokulieren. Die Probe mit einer sterilen Inokulationsöse auf dem Medium ausstreichen, um isolierte Kolonien zu gewinnen. Nähere Informationen zur Verarbeitung und Inokulation von Proben, wie beispielsweise Gewebe, Hautstückchen, Haar, Nagelabschnitte usw. sind der entsprechenden Fachliteratur zu entnehmen.^{1,6-9}

Zur Isolierung von Pilzen, die Hautmykosen verursachen, sollte ein nichtselektives Mehrzweckmedium zusammen mit dem selektiven Medium inokuliert werden. Einen Satz Röhrchen bei 25 – 30 °C und einen Duplikatsatz bei 35 – 37 °C inkubieren. Alle Kulturen mindestens einmal pro Woche auf Wachstum untersuchen und die Kulturen 4 – 6 Wochen aufbewahren, bevor sie als negativ interpretiert werden.

Qualitätssicherung durch den Anwender: Siehe „Maßnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Anwenden wird geraten, die relevanten CLSI-Richtlinien und CLIA-Vorschriften über geeignete Maßnahmen zur Qualitätskontrolle einzusehen.

X ERGEBNISSE

Das Medium auf Wachstum von Pilzspezies untersuchen; dabei Farbe und Morphologie dokumentieren.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zum Nachweis von Mikroorganismen muss der Organismus in Reinkultur vorhanden sein. Morphologische, nährstoffspezifische, biochemische und/oder serologische Tests sollten für den endgültigen Nachweis durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.⁶⁻¹¹

Ein einzelnes Medium reicht selten zum Nachweis aller potenziell signifikanten Organismen in einer Probe aus. Die Wirkstoffe in selektiven Medien können einige Stämme der gewünschten Spezies hemmen oder das Wachstum einer Spezies zulassen, die sie eigentlich hemmen sollten, besonders, wenn diese Spezies sehr zahlreich in der Probe vertreten ist. Auf selektiven Medien kultivierte Proben sollten deshalb auch auf nichtselektiven Medien kultiviert werden, um zusätzliche Informationen zu erhalten und die Isolierung potenzieller Pathogene sicherzustellen.

XII LEISTUNGSMERKMALE

Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood

Vor der Freigabe werden alle Chargen von Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood auf ihre spezifischen Produkteigenschaften getestet. Proben der Charge werden mit *Blastomyces dermatitidis* ATCC 56218, *Candida albicans* ATCC 60193 und *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 getestet und direkt durch Ausstreichen auf der Mediumoberfläche inokuliert. Die Röhrchen werden mit locker aufgesetzten Kappen 7 Tage lang bei 20 – 27 °C inkubiert. Mäßiges bis starkes Wachstum lässt sich bei allen Organismen beobachten.

Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin

Vor der Freigabe werden alle Chargen von Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin auf ihre spezifischen Produkteigenschaften getestet. Die Proben der Charge werden mit *Blastomyces dermatitidis* ATCC 56218, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922 und *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 getestet und direkt durch Ausstreichen auf der Mediumoberfläche (für *C. albicans* und *E. coli* werden normale Kochsalzlösungs-Suspensionen, verdünnt auf 10³ bis 10⁴ KBE, verwendet) inokuliert. Die Röhrchen werden mit locker aufgesetzten Kappen 7 Tage lang bei 20 – 27 °C inkubiert. Bei *B. dermatitidis*, *C. albicans* und *T. mentagrophytes* lässt sich ein mäßiges bis starkes Wachstum beobachten. Bei *E. coli* lässt sich eine teilweise bis vollständige Hemmung beobachten.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

- 297199 **BD BBL** Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood Slants, Packung mit 10 Röhrchen der Größe A €
- 296067 **BD BBL** Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood Slants, Karton mit 100 Röhrchen der Größe A
- 295756 **BD BBL** Brain Heart Infusion Agar with 10% Sheep Blood, Chloramphenicol and Gentamicin Slants, Karton mit 100 Röhrchen der Größe A
- 296358 **BD BBL** Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin Slants, Packung mit 10 Röhrchen der Größe A

XIV LITERATUR

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*, *Microsporum*, *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.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder 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