



BBL Brain Heart Infusion

BBL Brain Heart Infusion med 6,5 % natriumchlorid



L007440 • Rev. 12 • September 2014

KVALITETSKONTROLPROCEDURER

I INDLEDNING

Brain Heart Infusion (BHI) er et flydende medium til almen brug til vækst af en bred række bakterie- og svampearter. Brain Heart Infusion med 6,5 % natriumchlorid anvendes til at differentiere enterokokker fra ikke-enterokok gruppe D streptokokker.

II PROCEDURE FOR FUNKTIONSTEST

1. Inokulér repræsentative prøver med de dyrkninger, der er angivet nedenfor.
 - a. Fra 24- til 48-h *Trypticase sojabouillondyrkninger* præparerer fortyndinger til anvendelse som inokulum.
 - b. Inokulering af medier
 - 1) Inokulér glassene med prøverne med en fortynding af hver dyrkning til BHI. Fortyndingen skal indeholde 1.000 eller færre kolonidannende enheder. Opfyldningsmængder større end 5 mL skal inokuleres med 1,0 mL. Opfyldningsmængder på 5 mL eller mindre skal inokuleres med 0,1 mL.
 - 2) Inokulér glassene med prøverne til BHI med 6,5 % natriumchlorid vha. 10^1 fortyndinger af 18- til 24-h *Trypticase sojabouillondyrkninger* med en 0,01 mL kalibreret løkke.
 - c. Inkubér glassene med løsnede hætter ved 35 ± 2 °C i en aerob atmosfære.
2. Undersøg glassene med Brain Heart Infusion ved 24 og 48 h for vækst. Undersøg glassene med BHI med 6,5 % natriumchlorid ved 18 – 24 h for vækst og selektivitet.
3. Forventede resultater

Brain Heart Infusion

CLSI-organismér	ATCC	Isolering
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Vækst
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Vækst

Yderligere organismér

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Vækst
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Vækst
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Vækst

BHI med 6,5 % natriumchlorid

Organismér	ATCC	Isolering
* <i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Vækst
* <i>Streptococcus gallolyticus</i>	9809	Ingen vækst

*Anbefalet organismestamme til brugerkvalitetskontrol.

III YDERLIGERE KVALITETSKONTROL

1. Undersøg glassene, som beskrevet under "Produktforringelse".
2. Undersøg visuelt repræsentative glas for at sikre, at eventuelle eksisterende fysiske defekter ikke påvirker anvendelsen.
3. Inkubér ikke-inokulerede repræsentative glas ved 20 – 25 °C og 30 – 35 °C og undersøg for mikrobiel kontaminering efter 7 dage.

PRODUKTOPLYSNINGER

IV TILSIGTET BRUG

Brain Heart Infusion (BHI) er et flydende medium til almen brug, der anvendes til dyrkning af kræsne og ikke-kræsne mikroorganismer, herunder aerobe og anaerobe bakterier, fra en række kliniske og ikke-kliniske materialer. Bouillonmediet, der indeholder 6,5 % natriumchlorid anvendes til at differentiere enterokokker fra ikke-enterokok gruppe D streptokokker.

V RESUMÉ OG FORKLARING

BHI bouillon anvendes til dyrkning af en lang række mikroorganismer, herunder bakterier, gær og skimmelsvampe.¹ BHI med 6,5 % natriumchlorid anvendes til at differentiere enterokokkerne (f.eks. *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* og *E. avium*) fra de ikke-enterokokke arter (*S. gallolyticus* og *S. equinus*) vha. 6,5 % salttolerancetesten.²

VI METODENS PRINCIPPER

BHI bouillon er et nærende, bufret dyrkningsmedium, der indeholder infusioner af hjerne- og hjertevæv og peptoner, der leverer de protein og andre næringsstoffer, der er nødvendige for at understøtte væksten af kræsne og ikke-kræsne mikroorganismér. I formuleringen, der indeholder 6,5 % natriumchlorid, agerer saltet som et differentielt og/eller selektivt stof ved at interferere med membranpermeabiliteten og den osmotiske og elektrokinetiske balance i salt-intolerante organismer.¹

VII REAGENSER

Brain Heart Infusion

Omtrentlig formel* pr. liter renset vand

Brain Heart, Infusion fra (faststoffer)	6,0 g
Peptisk fordojelse af animalsk væv	6,0 g
Natriumchlorid.....	5,0 g
Dextrose	3,0 g
Pankreatisk fordojelse af gelatine	14,5 g
Dinatriumphosphat	2,5 g

*Justeret og/eller suppleret som krævet for at opfylde funktionskriterier.

Brain Heart Infusion med 6,5 % natriumchlorid indeholder 60 g/L natriumchlorid ud over ingredienserne, der er angivet ovenfor.

Advarsler og forholdsregler: *In vitro*-diagnostik.

Der skal udvises forsigtighed ved rapportering af resultater af direkte gramfarvning og/eller direkte mikrobiologisk farvning for vævsprøver, som er behandlet med dette medium, på grund af den mulige tilstedeværelse af ikke-levedygtige organismér i dyrkningsmediet.

Glas med stramme hætter skal åbnes forsigtigt for at undgå personskade pga. knust glas.

Patogene mikroorganismér, herunder hepatitisvira og humant immundefekt virus, kan forekomme i kliniske præparater. "Standardforholdsregler"³⁻⁶ og institutionelle retningslinjer bør følges ved håndteringen af alle materialer, der er kontamineret med blod og andre legemsvesker. Steriliser præparerede glas, prøvebeholdere og andre kontaminerede materialer efter brug ved autoklavering, inden de bortskaffes.

Opbevaringsinstruktioner: Efter modtagelse opbevares glas i mørke ved 2 – 25 °C. Undgå nedfrysning eller overophedning. Må ikke åbnes inden brugstidspunktet. Begræns lyspåvirkning mindst muligt. Medier i glas, som har været opbevaret efter anvisningerne på etiketten indtil umiddelbart inden brug, kan inkokuleres frem til udløbsdatoen og inkuberes i de anbefalede inkubationstidsrum. Lad mediet opnå stuetemperatur inden inkulering.

Produktnedbrydning: Glassene må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring eller andre tegn på forringelse.

VIII PRØVEINDSAMLING OG -HÅNDTERING

Præparater, der er egnet til dyrkning, kan håndteres med forskellige teknikker. Læs relevante tekster for at få detaljerede oplysninger.^{7,8} Der skal indsamlas prøver, inden der indgives antimikrobielle stoffer. Sørg for omgående levering til laboratoriet.

IX PROCEDURE

Vedlagte materialer: Brain Heart Infusion eller Brain Heart Infusion med 6,5 % natriumchlorid

Nødvendige, ikke vedlagte materialer: Hjælpedyrkningsmedier, reagenser, organismer til kvalitetskontrol og nødvendigt laboratorieudstyr.

Testprocedure: Overhold aseptisk teknik.

Med flydende prøver skal medier på glas inkokuleres med en eller to dråber af prøven vha. en steril pipette.

Podepindsprøver kan sættes i bouillon efter inkulering af medier på plade.

Flydende medier til anaerob inkubering bør reduceres før inkubering ved at anbringe glassene med løsnehede hætter under anaerobe forhold i 18 – 24 h før anvendelse. **BD GasPak EZ** anaerobe system er en effektiv og nem måde at opnå egnede anaerobe forhold på.

Alternativt kan flydende medier reduceres umiddelbart før anvendelse ved at koge dem i et vandbad* med løse hætter og nedkøle dem til stuetemperatur med fastskruede hætter før inkulering.

Inokulér 6,5 % NaCl bouillonen let med en eller to kolonier af mistænksomme bakterier. Inkubér aerobisk ved 35 ± 2 °C natten over. Undersøg for vækst; inkubér negative prøver igen i yderligere 24 h.

***BEMÆRK:** Brug af mikrobølgeovn anbefales ikke.

Bruger-kvalitetskontrol: Se "Kvalitetskontrolprocedurer".

Kvalitetskontrol skal udføres i overensstemmelse med gældende lokale og/eller nationale regulativer eller akkrediteringskrav samt laboratoriets standardkvalitetskontrolprocedurer. Det anbefales at læse de relevante CLSI-retningslinjer (tidligere NCCLS) og CLIA-regulativer mht. relevante procedurer for kvalitetskontrol.

X RESULTATER

Vækst i glassene angives ved tilstedeværelse af uklarhed sammenlignet med en uinokuleret kontrol.

Hvis der forekommer vækst, skal dyrknings undersøges vha. Gram-farvning og videredyrkning på behørlige medier, f.eks. **Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II)** og/eller **Chocolate II Agar plate**, **EMB Agar** eller **MacConkey II Agar plates**. Hvis anaerober mistænkes, skal videredyrkninger inkuberes anaerobisk som i et **GasPak EZ anaerobt system**. Enterokokker vokser i 6,5 % NaCl bouillon inden for 24 – 48 h. Ikke-enterokok gruppe D streptokokker kan ikke vokse i mediet efter 48 timers inkubering.²

XI PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Organismes skal være i ren dyrkning, så de kan identificeres. Der bør foretages morfologiske, biokemiske og/eller serologiske test for at få en endelig identifikation. Læs de relevante tekster for detaljerede oplysninger og anbefalede procedurer.⁷⁻⁹

Dyrkningsmedier indeholder til tider døde organismer, der stammer fra mediet, og disse organismer kan være synlige i udstrøgne dyrkningsmedier. Andre kilder til døde organismer, som kan blive synlige ved gramfarvning, omfatter farvningsreagenser, immersionsolie, objektglas og de prøver, som anvendes til inkubation. Hvis der er tvivl om gramfarvningens validitet, skal dyrkningen inkuberes igen i en time eller to, hvorefter testen gentages, inden der afgives rapport.

Stammer af andre katalase-negative, gram-positive kokker; dvs. *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Vagococcus*, er blevet isoleret fra humane infektioner. Derfor kan den formodede identifikation af enterokokker baseret på galde-æskulin-reaktionen og vækst i 6,5 % NaCl bouillon ikke foretages.¹⁰

XII FUNKTIONSDATA

Brain Heart Infusion

Før frigivelse testes alle partier af Brain Heart Infusion for funktionsdata. Vha. en steril pipette inkuleres repræsentative prøver af partiet med 0,1 mL (for opfyldningsmængder på 5 mL eller derunder) eller 1,0 mL (for opfyldningsmængder større end 5 mL) af **Trypticase** sojabouillon eller Thioglycollat medium, berigede dyrkninger, der indeholder 1.000 kolonidannende enheder (CFU) eller mindre af *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) og *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615). Glassene inkuberes med løsnede hætter ved 35 ± 2 °C og aflæses efter 18 – 24 h og 42 – 48 h for vækst. Alle dyrkninger udviser moderat til kraftig vækst inden for 48 timer.

Brain Heart Infusion med 6,5 % natriumchlorid

Inden frigivelse testes alle partier af Brain Heart Infusion med 6,5 % natriumchlorid for funktionsdata. Vha. en 0,01 mL kalibreret løkke testes repræsentative prøver fra partiet med **Trypticase** sojabouillon-dyrkninger fortyndet 10⁻¹ af *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) og *Streptococcus gallolyticus* (ATCC 9809). Glassene inkuberes ved 35 ± 2 °C og aflæses efter 18 – 24 h og 42 – 48 h for vækst. *E. faecalis* udviser moderat til kraftig vækst, mens *S. gallolyticus* er fuldstændig hæmmet.

Endvidere testes repræsentative prøver kemisk med sølvnitrat-titrering for natriumchloridindhold. Den beregnede procent af natriumchlorid er 6,0 til 7,0.

XIII BESTILLING

Kat.- nr.	Beskrivelse
221778	BD BBL Brain Heart Infusion, 0,5 mL, karton med 100 størrelse K glas
297769	BD BBL Brain Heart Infusion, 2 mL, karton med 100 størrelse K glas
221812	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, pakke med 10 størrelse K glas
221813	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, karton med 100, størrelse K glas
220837	BD BBL Brain Heart Infusion, 8 mL, karton med 100 størrelse K glas
221785	BD BBL Brain Heart Infusion med 6,5 % natriumchlorid, pakke med 10 størrelse K glas

XIV LITTERATUR

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. Pfaffer (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. Pfaffer, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

BD Diagnostics Teknisk service og support: skal De kontakte den lokale BD repræsentant eller besøg 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.