



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



L007440 • Rev. 12 • September 2014

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Hirn-Herz-Infus (BHI/Brain Heart Infusion) ist ein flüssiges Universalmedium zur Kultivierung einer Vielzahl von Bakterien und Pilzen. Hirn-Herz-Infus mit 6,5 % Natriumchlorid wird für die Differenzierung zwischen Enterokokken und Streptokokken der Gruppe D verwendet, bei denen es sich nicht um Enterokokken handelt.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Aus 24 bis 48 h alten **Trypticase**-Soja-Bouillon-Kulturen Verdünnungen zur Verwendung als Inokulum herstellen.
 - b. Inokulation der Medien
 - 1) Für Hirn-Herz-Infus Röhrchen der Testprobe mit einer Verdünnung jeder Kultur inokulieren. Die Verdünnung darf nicht mehr als 1000 KBE enthalten. Füllvolumina von mehr als 5 mL sollten mit 1,0 mL inokuliert werden. Füllvolumina von weniger als 5 mL sollten mit 0,1 mL inokuliert werden.
 - 2) Für Hirn-Herz-Infus mit 6,5 % Natriumchlorid mit einer kalibrierten 0,01-mL-Impföse die Röhrchen der Testprobe mit einer 10^{-1} -Verdünnung von 18 bis 24 h alten Kulturen auf **Trypticase**-Soja-Bouillon inokulieren.
 - c. Die Röhrchen mit gelösten Verschlüssen in einer aeroben Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubieren.
2. Die Röhrchen des Hirn-Herz-Infus nach 24 und 48 h auf Wachstum untersuchen. Röhrchen für den Hirn-Herz-Infus mit 6,5 % Natriumchlorid nach 18 bis 24 h auf Wachstum und Selektivität überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse
 - a. Hirn-Herz-Infus
CLSI Kontrollorganismen (ATCC-Stämme)
**Escherichia coli* Wachstum
(25922)
**Staphylococcus aureus* Wachstum
(25923)
Weitere verwendete Stämme:
Pseudomonas aeruginosa Wachstum
ATCC 27853
Enterococcus faecalis Wachstum
ATCC 29212
Streptococcus pyogenes Wachstum
ATCC 19615
 - b. Hirn-Herz-Infus mit 6,5 % Natriumchlorid
**Enterococcus faecalis* Wachstum
ATCC 29212
**Streptococcus gallolyticus* Kein Wachstum
ATCC 9809

* Empfohlener Organismusstamm für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Röhrchen wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben begutachten.
2. Die repräsentativen Röhrchen auf sichtbare Beschädigungen prüfen, durch die ihre Verwendung beeinträchtigt werden könnte.
3. Nicht inokulierte repräsentative Röhrchen bei 20 bis 25 °C und 30 bis 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf mikrobielle Kontamination untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Hirn-Herz-Infus (BHI/Brain Heart Infusion) ist ein flüssiges Universalmedium für die Kultivierung von anspruchsvollen und nicht anspruchsvollen Mikroorganismen aus einer Vielzahl klinischer und nicht klinischer Materialien, einschließlich aerober und anaerober Bakterien.

Das Bouillon-Medium, das 6,5 % Natriumchlorid enthält, wird für die Differenzierung zwischen Enterokokken und Streptokokken der Gruppe D verwendet, bei denen es sich nicht um Enterokokken handelt.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Hirn-Herz-Infus-Bouillon wird zur Kultivierung einer Vielzahl von Mikroorganismen, einschließlich Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen, verwendet.¹

Hirn-Herz-Infus mit 6,5 % Natriumchlorid dient zur Differenzierung der Enterokokken (z.B., *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* und *E. avium*) von den Nicht-Enterokokken-Spezies (*S. gallolyticus* und *S. equinus*) durch den 6,5%-Salztoleranztest.²

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Hirn-Herz-Infus ist ein nährstoffreiches gepuffertes Kulturmedium mit einer Infusion von Hirn- und Herzgewebe sowie Peptonen, das eine ausreichende Menge an Proteinen und anderen Nährstoffen zu Verfügung stellt, die das Wachstum von anspruchsvollen und nicht anspruchsvollen Mikroorganismen fördern. In der Formulierung mit 6,5 % Natriumchlorid dient das Salz als differenzierendes bzw. selektierendes Agens, das die Membranpermeabilität und die osmotischen sowie elektrokinetischen Gleichgewichte in salztoleranten Organismen beeinträchtigt.¹

VII REAGENZIEN

Hirn-Herz-Infus

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser

Hirn-Herz-Infus von (Frischgewebe)	6,0 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	6,0 g
Natriumchlorid.....	5,0 g
Dextrose	3,0 g
Pankreatisch abgebaute Gelatine.....	14,5 g
Dinatriumphosphat	2,5 g

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

Zusätzlich zu den oben aufgeführten Bestandteilen enthält Hirn-Herz-Infus mit 6,5 % Natriumchlorid 60 g/L Natriumchlorid.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Beim Berichten über die Ergebnisse von direkten Gramfärbungen und/oder anderen direkten mikrobiologischen Färbungen bei Gewebeproben, die mit diesem Medium verarbeitet wurden, sollte besondere Vorsicht angewandt werden, da möglicherweise nicht lebensfähige Organismen im Kulturmedium vorhanden sind.

Fest verschlossene Röhrchen sollten vorsichtig geöffnet werden, um Verletzungen durch 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“³⁻⁶ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Präparierte Röhrchen, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Röhrchen nach Erhalt im Dunkeln bei 2 – 25 °C lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. Medien in Röhrchen, die vor Gebrauch gemäß der Anleitung auf dem Etikett gelagert werden, können bis zum Verfallsdatum inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts

Röhrchen bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Die Handhabung der für die Kultivierung geeigneten Proben kann auf verschiedene Arten geschehen. Detaillierte Informationen enthält die entsprechende Fachliteratur.^{7,8} Die Proben sollten vor der Verabreichung von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Brain Heart Infusion oder

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Aseptische Kautelen beachten.

Bei flüssigen Proben sollten die Medien in den Röhrchen mit Hilfe einer sterilen Pipette mit ein oder zwei Tropfen der Probe inokuliert werden. Abstrichproben können nach der Inokulation des Plattenmediums in die Bouillon eingetaucht werden.

Für die aerobe Inkubation sollte das flüssige Medium vor der Inkubation reduziert werden; dazu die Röhrchen mit gelösten Verschlüssen unter anaeroben Bedingungen 18 bis 24 h lang aufbewahren. Geeignete anaerobe Bedingungen können effizient und einfach mit dem anaeroben System **BD GasPak EZ** hergestellt werden.

Alternativ kann das flüssige Medium vor der Inokulation auch unmittelbar vor dem Gebrauch durch Kochen im Wasserbad* (mit gelösten Verschlüssen) und Abkühlen auf Raumtemperatur (mit geschlossenen Verschlüssen) reduziert werden.

Die 6,5 % NaCl-Bouillon schwach mit ein oder zwei Kolonien der vermuteten Bakterien inokulieren. Unter aeroben Bedingungen bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ über Nacht inkubieren. Auf Wachstum untersuchen; negative Tests für weitere 24 h inkubieren.

***HINWEIS:** Die Verwendung von Mikrowellengeräten wird nicht empfohlen.

Qualitätskontrolle durch den Anwender

Siehe „Massnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder der Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie den Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Es wird empfohlen, die korrekten Qualitätskontrollverfahren den geltenden CLSI-Richtlinien und CLIA-Bestimmungen zu entnehmen.

X ERGEBNISSE

Wachstum in den Röhrchen wird durch Trübung angezeigt (mit nicht inokulierten Röhrchen vergleichen).

Ist Wachstum zu erkennen, sollten die Kulturen durch Gramfärbung und Anlegen einer Subkultur auf einem geeigneten Medium untersucht werden (z.B. auf **Trypticase**-Soja-Agar mit 5 % Schafblut (TSA II) bzw. Schokoladenagar-II-Platten, EMB-Agar oder MacConkey-II-Agar-Platten. Werden Anaerobier vermutet, sollten die Subkulturen z.B. in einem **GasPak EZ**-Anaerobsystem anaerob inkubiert werden.

Enterokokken weisen in der 6,5% NaCl-Bouillon nach 24 bis 48 h Wachstum auf. Streptokokken der Gruppe D, bei denen es sich nicht um Enterokokken handelt, weisen auch nach 48 h in dem Medium kein Wachstum auf.²

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zur Identifizierung müssen die Mikroorganismen in Reinkultur vorliegen. Für die endgültige Identifizierung sollten morphologische, biochemische und/oder serologische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.⁷⁻⁹

Kulturmedien enthalten gelegentlich abgestorbene Organismen, die in Ausstrichen von Nährmedien sichtbar sein können. Färbereagenzien, Immersionsöl, Objektträger (Glas) und die zur Inokulation verwendeten Proben können ebenfalls abgestorbene Organismen beherbergen, die durch Gramfärbung sichtbar werden. Falls Unsicherheit über die Gültigkeit der Gramfärbung besteht, sollte die Kultur eine oder zwei weitere Stunden inkubiert und der Test wiederholt werden, ehe ein Bericht erstellt wird.

Stämme anderer katalasen negativer, grampositiver Kokken wie z.B. *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* und *Vagococcus* wurden von Humaninfektionen isoliert. Daher kann die Identifikation von Enterokokken nicht alleine auf Grundlage der Galle-Äskulin-Reaktion und dem Wachstum in 6,5 % NaCl-Bouillon erfolgen.¹⁰

XII LEISTUNGSMERKMALE

Hirn-Herz-Infus

Vor der Freigabe werden alle Chargen des Hirn-Herz-Infus auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Repräsentative Proben der Charge werden unter Verwendung einer sterilen Pipette mit 0,1 mL (für Füllvolumina von kleiner oder gleich 5 mL) bzw. mit 1,0 mL (für Füllvolumina größer oder gleich 5 mL) **Trypticase-Soja-Bouillon** oder Thioglykolat-Medium inokuliert; die angereicherten Kulturen sollten dabei maximal 1000 koloniebildende Einheiten (KBE) *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) und *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615) enthalten. Die Röhrchen werden mit gelösten Verschlüssen bei 35 ± 2 °C inkubiert und nach 18 bis 24 h auf Wachstum untersucht. Innerhalb von 48 h weisen alle Kulturen mittleres bis starkes Wachstum auf.

Hirn-Herz-Infus mit 6,5 % Natriumchlorid

Vor der Freigabe werden alle Chargen des Hirn-Herz-Infus mit 6,5 % Natriumchlorid auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Mit einer kalibrierten 0,01-mL-Impföse werden repräsentative Proben der Charge mit im Verhältnis von 10^{-1} verdünnten Kulturen von *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) und *Streptococcus gallolyticus* (ATCC 9809) auf **Trypticase-Soja-Agar** getestet. Die Röhrchen werden bei 35 ± 2 °C inkubiert und nach 18 bis 24 h auf Wachstum untersucht. *E. faecalis* weist mittleres bis starkes Wachstum auf, während das Wachstum von *S. gallolyticus* vollständig unterdrückt ist.

Zusätzlich werden repräsentative Proben chemisch durch Titration von Silbernitrat auf ihren Gehalt an Natriumchlorid untersucht. Der berechnete prozentuale Anteil an Natriumchlorid beträgt 6,0 bis 7,0.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
221778	BD BBL Brain Heart Infusion , 0,5 mL, Karton mit 100 Röhrchen der Größe K
297769	BD BBL Brain Heart Infusion , 2 mL, Karton mit 100 Röhrchen der Größe K
221812	BD BBL Brain Heart Infusion , 5 mL, Packung mit 10 Röhrchen der Größe K
221813	BD BBL Brain Heart Infusion , 5 mL, Karton mit 100 Röhrchen der Größe K
220837	BD BBL Brain Heart Infusion , 8 mL, Karton mit 100 Röhrchen der Größe K
221785	BD BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride , Packung mit 10 Röhrchen der Größe K

XIV LITERATUR

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.

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