



BBL Brain Heart Infusion

BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride



L007440 • Rev. 12 • Szeptember 2014

MINŐSÉGELLENŐRZÉSI ELJÁRÁS

I BEVEZETÉS

A Brain Heart Infusion (agy- és szívkivonat; BHI) általános folyékony tápközeg, amely a baktérium- és gombafajok széles körének tenyésztésére alkalmas. A Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride tápközzel az *Enterococcus* fajok különíthetők el a nem *Enterococcus*, D csoportú streptococcusoktól.

II MŰKÖDÉSI TESZT ELJÁRÁS

1. Inokulálja a reprezentatív mintákat az alább felsorolt kultúrákkal.
 - a. Készítsen inokulumnak való hígítást 24 – 48 órás **Trypticase** Soy Broth tenyészetekből.
 - b. A tápközeg inokulálása
 - 1) A BHI esetében inokulálja a tesztminta-csőveket mindegyik tenyészet hígításával. A hígított tenyészet legfeljebb 1000 CFU-t tartalmazhat. Az 5 mL-nél nagyobb űrtartalmú edényeket 1,0 mL tenyészettel kell inokulálni. Az 5 mL-nél kisebb űrtartalmú edényeket 0,1 mL tenyészettel kell inokulálni.
 - 2) A BHI with 6.5% Sodium Chloride esetében egy 0,01 mL-es kalibrált kacs segítségével inokulálja a tesztminta-csőveket 18– 24 órás **Trypticase** Soy levestenyészet 10^{-1} -es hígításával.
 - c. Inkubálja a csöveket meglazított kupakkal $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ -on, aerob körülmények között.
2. A Brain Heart Infusion csövekben 24 és 48 óra után ellenőrizze a növekedést. A BHI with 6.5% Sodium Chloride csövekben 18 – 24 óra után ellenőrizze a növekedést és a szelektivitást.
3. Várható eredmények
 - a. Brain Heart Infusion
CLSI kontroll organizmusok (ATCC törzsek)
**Escherichia coli*..... Növekedés
(25922)
**Staphylococcus aureus*..... Növekedés
(25923)
További törzsek:
Pseudomonas aeruginosa..... Növekedés
ATCC 27853
Enterococcus faecalis Növekedés
ATCC 29212
Streptococcus pyogenes Növekedés
ATCC 19615
 - b. BHI with 6.5% Sodium Chloride
**Enterococcus faecalis* Növekedés
ATCC 29212
**Streptococcus gallolyticus* Nincs növekedés
ATCC 9809
*Felhasználói minőségellenőrzéshez javasolt organizmus törzs.

III TOVÁBBI MINŐSÉGELLENŐRZÉS

1. Ellenőrizze a csöveket a „Termék szavatossága” fejezetben leírtak szerint.
2. Szemrevételezze a csöveket, talál-e rajtuk fizikai sérülést mely összeférhetetlen a használattal.
3. Inkubáljon reprezentatív nem inokulált csöveket $20 - 25^{\circ}\text{C}$ -on és $30 - 35^{\circ}\text{C}$ -on, és 7 nap után ellenőrizze az esetleges mikrobiológiai szennyeződéseket.

A TERMÉK ISMERTETÉSE

IV HASZNÁLATI JAVASLAT

A Brain Heart Infusion (BHI) (agy- és szívkivonat) egy általános felhasználású folyékony tápközeg a különböző klinikai és nem klinikai mintákból származó érzékeny és nem érzékeny mikroorganizmusok, így aerob és nem aerob baktériumok tenyésztésére.

A 6,5% nátrium-kloridot tartalmazó táplevelessel az *Enterococcus* fajok különíthetők el a nem *Enterococcus*, D csoportú streptococcusoktól.

V ÖSSZEGZÉS ÉS MAGYARÁZAT

A BHI tápveles a mikroorganizmusok széles körének, így baktériumok, élesztőgombák és penészgombák tenyésztésére használatos.¹

A BHI with 6.5% Sodium Chloride az enterococcusoknak (például *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* és *E. avium*) a nem *Enterococcus* fajoktól (*S. gallolyticus* és *S. equinus*) történő elkülönítésére szolgál a 6,5%-os sótolerancia-teszt segítségével.²

VI AZ ELJÁRÁS ALAPELVEI

A BHI tápanyagtartalmú, pufferelt tenyészközege, amely agy- és szívsvetkivonatot és peptont tartalmaz az érzékeny és a nem érzékeny mikroorganizmusok növekedéséhez szükséges fehérje és egyéb tápanyagok biztosítása céljából. A 6,5% nátrium-kloridot tartalmazó készítményben a só differenciáló és/vagy szelektív szerként működik azáltal, hogy megzavarja a membrán permeabilitását és az ozmotikus és elektrokinetikus egyensúlyt a nem sótoleráns mikroorganizmusokban.¹

VII REAGENSEK

Brain Heart Infusion

Megközelítő összetétel*, 1 liter szűrt vízre vonatkoztatva

Agyvelő-szív infúziós kivonat	6,0	g
Peptikusan emésztett állati szövetek	6,0	g
Nátrium-klorid	5,0	g
Dextróz	3,0	g
Pankreatikusan emésztett zselatin	14,5	g
Dinátrium-foszfát (Na ₂ HPO ₄)	2,5	g

*Úgy beállítva és/vagy kiegészítve, hogy megfeleljen a teljesítmény követelményeknek.

A Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride a fent felsorolt összetevőkön kívül még 60 g/L nátrium-kloridot is tartalmaz.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

In vitro diagnosztikai felhasználásra.

A tenyésztő tápközegekben esetleg megtalálható nem élő mikroorganizmusok miatt a szövetmintákon ezzel a tápközegekkel végzett közvetlen Gram-festés, illetve más közvetlen mikrobiológiai festési eljárás eredményét csak fenntartásokkal lehet kezelni.

A szorosan lezárt kémcsöveket és palackokat óvatosan kell felnyitni, hogy elkerüljék az üveg törése miatt bekövetkező baleseteket.

A klinikai minták kórokozó mikroorganizmusokat, köztük hepatitis vírusokat és emberi immunhiány vírust (Human Immunodeficiency Virus; HIV) tartalmazhatnak. Valamennyi vért és testnedveket tartalmazó tárgy kezelése során be kell tartani a „Szokványos óvintézkedéseket”³⁻⁶ és az intézmény irányelveit. A preparált kémcsöveket, mintatartókat, és egyéb szennyezett anyagokat eldobás előtt autoklávozással sterilizálni kell.

Tárolási utasítások

Átvétel után a csöveket 2 – 25°C-on, sötétben kell tárolni. Óvja a csöveket a megfagyástól és a túlmelegedéstől. Használat előtt ne nyissa fel! A fénynek való kitettséget minimálisra kell csökkenteni. A közvetlenül a felhasználásig a címkén szereplő utasítás szerint kémcsőbe töltött táptalaj a szavatossági időig inokulálható, és az ajánlott inkubációs időpontokig inkubálható. Inokulálás előtt hagyja a tápközeget szobahőmérsékletre felmelegedni.

Termék szavatossága

Ne használja a kémcsöveket, ha azon mikrobiális szennyeződés, elszíneződés, kiszáradás, vagy a károsodás bármilyen más jelét észleli.

VIII MINTAVÉTEL- ÉS KEZELÉS

A kultúratenyésztésre alkalmas minták különböző módszerek alkalmazásával kezelhetők. A további eljárásokról bővebb információt olvashat az idevonatkozó szakirodalomban.^{7,8} A mintákat lehetőleg az antimikrobiális kezelés megkezdése előtt kell levenni. Gondoskodni kell a laboratóriumba történő gyors beszállításról.

IX ELJÁRÁS

Szállított anyagok

Brain Heart Infusion vagy

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Szükséges de nem szállított anyagok

Kiegészítő táptalajok, reagensek, minőségellenőrző organizmusok, és laboratóriumi eszközök, szükség szerint.

A teszt kivitelezése

Tartsa be az aszeptikus módszereket.

Folyékony minták esetében a csöves tápközeget steril pipettával, 1 – 2 cseppnyi mintával kell inokulálni. Tamponos mintavétel esetén először a lemezes táptalajt kell inokulálni a tamponnal, majd a tampont bele kell tenni a táplevesbe.

A táplevest az anaerob inokulálás előtt közvetlenül redukálni kell, ehhez a csöveket meglazított kupakkal anaerob körülmények közé kell helyezni 18 – 24 órára. A **BD GasPak EZ** anaerob rendszerek használata az anaerob körülmények biztosításának hatékony és egyszerű módja.

A folyékony tápközeg redukálása ezen kívül történhet közvetlenül a felhasználás előtt is meglazított kupakkal forró vízben történő melegítéssel*, majd megszorított kupakkal szobahőmérsékletre való lehűtéssel.

A 6,5%-os NaCl-ot tartalmazó táplevest a vizsgálandó baktériumnak csak egy-két telepével inokulálja. Inkubálja a csöveket egy éjszakán át $35 \pm 2^\circ\text{C}$ -on aerob körülmények között. Ellenőrizze a szaporodást; a negatív mintákat pedig inkubálja további 24 órán keresztül.

***MEGJEGYZÉS:** Mikrohullámú sütő használata nem ajánlott.

Felhasználói minőségellenőrzés

Lásd „Felhasználói minőségellenőrzési eljárások”.

A minőségellenőrzési követelmények betartásának összhangban kell lennie a vonatkozó helyi, állami és/vagy szövetségi szabályozásokkal vagy követelményekkel és az adott laboratórium irányadó minőségellenőrzési eljárásaival. A helyes minőségellenőrzési gyakorlatot illetően olvassa el a vonatkozó CLSI irányelveket és CLIA szabályozásokat.

X EREDMÉNYEK

A szaporodást a csövekben a turbiditásnak a nem inokulált kontrollhoz viszonyított növekedése mutatja.

Ha növekedés tapasztalható, a tenyészeteket meg kell vizsgálni Gram-festéssel és megfelelő tápközegekbe, például **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)** és/vagy **Chocolate II Agar** lemezre, **EMB Agar** vagy **MacConkey II Agar** lemezre történő leoltással. Ha anaerob mikroorganizmusok jelenlétének gyanúja áll fenn, a leoltott tenyészeteket anaerob körülmények között, például **GasPak EZ** rendszerben kell inkubálni.

A 6,5% NaCl-ot tartalmazó táplevesben az enterococcusok szaporodni fognak 24 – 48 órán belül. A nem *Enterococcus*, D csoportú streptococcusok 48 órás inkubáció során nem szaporodnak ebben a tápközegekben.²

XI AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

A beazonosításhoz az organizmusoknak tiszta tenyészetben kell lenniük. A végső azonosításhoz morfológiai, biokémiai, és/vagy szerológiai tesztek kell végrehajtani. Az ajánlott eljárásokról bővebb információt olvashat az idevonatkozó szakirodalomban.⁷⁻⁹

A tápleves tartalmazhat elpusztult mikroorganizmusokat, amelyek a tápközegek összetevőiből származnak; ezek olykor láthatók a tápközegek kenetén. Az elpusztult mikroorganizmusoknak további forrásai lehetnek a Gram-festés reagentái, az immerziós olaj, az üveg tárgylemezek, valamint az inokuláláshoz használt minta. Ha a Gram-festés eredménye bizonytalan, a tenyészetet további egy vagy két órára újra kell inkubálni, és az eredmények lezárása előtt a tesztet meg kell ismételni.

Humán infekciókból más kataláz-negatív, gram-pozitív coccus törzseket is izoláltak, például a *Lactococcus*, a *Leuconostoc*, a *Pediococcus* és a *Vagococcus* törzset. Ezért az enterococcusok előzetes azonosítása nem lehetséges az epe-esculin reakció és a 6,5%-os nátrium-kloridban való szaporodás alapján.¹⁰

XII TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

Brain Heart Infusion

A kibocsátás előtt valamennyi Brain Heart Infusion gyártási sorozatát leellenőrzik a működési jellemzőkre vonatkozóan. Steril pipettával inokulálják a gyártási sorozat reprezentatív mintáját 0,1 mL (legfeljebb 5 mL-es töltési térfogat esetén) vagy 1,0 mL (több mint 5 mL-es töltési térfogat esetén), legfeljebb 1000 kolóniaképző egységnyi (CFU) *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) és *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615) mintát tartalmazó **Trypticase Soy Broth** vagy **Thioglycollate Medium**, Enriched tenyészetekkel. A csöveket meglazított kupakkal inkubálják $35 \pm 2^\circ\text{C}$ -on, és 18–24 óra, majd 42 – 48 óra elteltével

megvizsgálják a csövekben a szaporodást. Mindegyik tenyészet közepes vagy erős növekedést mutat 48 órán belül.

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

A kibocsátás előtt valamennyi Brain Heart Infusion with 6,5% Sodium Chloride gyártási sorozatát leellenőrzik a működési jellemzőkre vonatkozóan. Egy 0,01 mL-es kalibrált kacs segítségével a tételből vett reprezentatív mintát tesztelnek az *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) és a *Streptococcus gallolyticus* (ATCC 9809) 10^{-1} hígítású Trypticase Soy Broth táplevestenyészetével. A csöveket inkubálják $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ -on és 18–24 óra valamint 42 – 48 óra után megvizsgálják azok szaporodását. Az *E. faecalis* mérsékelt vagy erős szaporodást mutat, míg a *S. gallolyticus* szaporodása teljes mértékben gátolt.

Ezenkívül reprezentatív számú mintában kémiai eljárással, ezüst-nitrát titrálással megvizsgálják a nátrium-klorid tartalmat is. Az így kapott nátrium-klorid arány 6,0 – 7,0 százalék.

XIII KISZERELÉSEK

Kat. sz.	Leírás
----------	--------

221778	BD BBL Brain Heart Infusion, 0,5 mL, 100 db K méretű cső dobozonként
297769	BD BBL Brain Heart Infusion, 2 mL, 100 db K méretű cső dobozonként
221812	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, 10 db K méretű cső csomagonként
221813	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, 100 db K méretű cső dobozonként
220837	BD BBL Brain Heart Infusion, 8 mL, 100 db K méretű cső dobozonként
221785	BD BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride, 10 db K méretű cső csomagonként

XIV IRODALOMJEGYZÉK

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation- cultivation-identification-maintenance of medical 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.

Műszaki szerviz BD Diagnostics: Az Amerikai Egyesült Államokon kívül vegye fel a kapcsolatot a BD képviselőjével, vagy munkatársainkkal a www.bd.com/ds címen.



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.