



BBL Brain Heart Infusion



BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

L007440 • Wersja 12 • Wrzesień 2014

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

I WPROWADZENIE

Infuzja z mózgu i serca (Brain Heart Infusion, BHI) jest to uniwersalne podłoże płynne przeznaczone do hodowli wielu gatunków bakterii oraz grzybów. Infuzja z mózgu i serca z 6,5% dodatkiem chlorku sodu jest stosowana do odróżniania enterokoków od paciorkowców grupy D niebędących enterokokami.

II PROCEDURA KONTROLI DZIAŁANIA

1. Podłoże zaszczenia się reprezentatywnymi próbkami wymienionych szczepów.
 - a. Korzystając z 24- do 48-godzinnych kultur na bulionie sojowym **Trypticase**, przygotować rozcieńczenia stosowane do zaszczenia.
 - b. Zaszczepianie podłoża
 - 1) W przypadku podłoża BHI wykonać posiew rozcieńczeniem z każdej hodowli w probówkach z próbkami testowymi. Rozcieńczenie musi zawierać 1000 CFU lub mniej. Objętości powyżej 5 mL powinny być zaszczone objętością 1,0 mL. Objętości równe lub mniejsze 5 mL powinny zostać zaszczone objętością równą 0,1 mL.
 - 2) W przypadku podłoża BHI z 6,5% dodatkiem chlorku sodu wykonać posiew w probówkach z próbkami testowymi, stosując 10^{-1} rozcieńczenia 18- do 24-godzinnych kultur na bulionie sojowym **Trypticase** za pomocą skalibrowanej ezy 0,01 mL.
 - c. Inkubować próbki z poluzowanymi zatyczkami w temperaturze $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ w atmosferze tlenowej.
2. Sprawdzić próbki zawierające infuzję z mózgu i serca po 24 i 48 godzinach pod względem wzrostu. Sprawdzić próbki zawierające BHI z 6,5% dodatkiem chlorku sodu po 18 do 24 godzin pod względem wzrostu i selektywności.
3. Oczekiwane wyniki
 - a. Infuzja z mózgu i serca
Organizmy kontrolne CLSI (szczepy ATCC)
**Escherichia coli* Wzrost
(25922)
**Staphylococcus aureus* Wzrost
(25923)
Dodatkowe szczepy stosowane:
Pseudomonas aeruginosa Wzrost
ATCC 27853
Enterococcus faecalis Wzrost
ATCC 29212
Streptococcus pyogenes Wzrost
ATCC 19615
 - b. BHI z 6,5% dodatkiem chlorku sodu
**Enterococcus faecalis* Wzrost
ATCC 29212
**Streptococcus galloyticus* Brak wzrostu
ATCC 9809

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

1. Ocenic próbki według opisu w dziale „Pogorszenie jakości produktu.”
2. Wzrokowo ocenic reprezentatywne próbki, aby upewnic się, że żadne istniejące wady fizyczne nie będą przeszkadzały w ich użytkowaniu.
3. Inkubować reprezentatywne próbki bez wysianych drobnoustrojów w temperaturze 20 do 25°C i 30 do 35°C i ocenic po 7 dniach pod względem zanieczyszczenia drobnoustrojami.

INFORMACJE O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

Infuzja z mózgu i serca (Brain Heart Infusion, BHI) jest to uniwersalne podłoże płynne przeznaczone do hodowli wymagających i niewymagających drobnoustrojów, w tym bakterii tlenowych i beztlenowych, pochodzących z różnych materiałów klinicznych oraz nieklinicznych.

Pożywka bulionowa zawierająca 6,5% dodatek chlorku sodu jest stosowana do odróżniania enterokoków od paciorkowców grupy D niebędących enterokokami.

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Podłoże BHI jest stosowane do hodowli wielu rodzajów drobnoustrojów, w tym bakterii, drożdży oraz pleśni.¹

Podłoże BHI z 6,5% dodatkiem chlorku sodu jest stosowane do odróżniania enterokoków

(np. *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* oraz *E. avium*) od gatunków niebędących enterokokami (*S. gallolyticus* oraz *S. equinus*) przy zastosowaniu testu tolerancji 6,5% soli.²

VI ZASADA PROCEDURY

Podłoże BHI jest pożywnym, buforowanym podłożem hodowlanym, zawierającym infuzję tkanek mózgu i serca oraz peptony, których zadaniem jest dostarczenie białka oraz innych składników odżywczych potrzebnych do wzrostu wymagających i niewymagających drobnoustrojów. W preparacie zawierającym 6,5% dodatek chlorku sodu sól działa jako środek różnicujący i/lub selekcyjny, gdyż wpływa na przepuszczalność błony oraz na równowagę osmotyczną i elektrokinetyczną w organizmach nietolerujących soli.¹

VII ODCZYNNIKI

Infuzja z mózgu i serca

Przybliżony skład* w przeliczeniu na jeden litr wody oczyszczonej

Wyciąg sercowo-mózgowy (ciało stałe)	6,0	g
Hydrolizat pepsynowy tkanki zwierzęcej	6,0	g
Chlorek sodu	5,0	g
Dekstroza	3,0	g
Trzuskowy hydrolizat żelatyny	14,5	g
Fosforan disodu	2,5	g

*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

Infuzja z mózgu i serca z 6,5% dodatkiem chlorku sodu poza wymienionymi wyżej składnikami zawiera dodatkowo 60 g/L chlorku sodu.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Podczas zgłaszania wyników bezpośredniego barwienia metodą Grama i/lub wyników bezpośredniego barwienia innymi metodami mikrobiologicznymi próbek tkankowych obrabianych z zastosowaniem tego podłoża należy zachować ostrożność ze względu na możliwą obecność martwych drobnoustrojów w podłożu.

Probówki z ciasno dopasowanymi zatyczkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

W próbkach mogą być obecne drobnoustroje patogenne, takie jak wirusy zapalenia wątroby i wirus HIV. Przy kontakcie z wszelkimi materiałami zanieczyszczonymi krwią lub innymi płynami ustrojowymi należy przestrzegać „Uniwersalnych środków ostrożności”³⁻⁶ oraz zaleceń obowiązujących w danej instytucji. Po użyciu wykorzystane probówki, pojemniki na próbki i inne skażone materiały należy przed wyrzuceniem wyjałowić w autoklawie.

Zalecenia dotyczące przechowywania:

Po otrzymaniu przechowywać probówki w ciemności w temperaturze 2 – 25 °C. Nie zamrażać i nie przegrzewać. Nie otwierać do chwili użycia. Ograniczać kontakt ze światłem. W pożywkach przechowywanych do momentu użycia w probówkach, zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

Pogorszenie jakości produktu

Nie używać probówek, jeżeli są widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia lub inne, świadczące o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I OBCHODZENIE SIĘ Z NIMI

Próbki przeznaczone do hodowli można przygotowywać różnymi technikami. Aby uzyskać szczegółowe informacje, należy zapoznać się z literaturą przedmiotu.^{7,8} Probki należy pobrać przed podaniem środków przeciwbakteryjnych. Konieczne jest zapewnienie szybkiej dostawy do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały

Infuzja z mózgu i serca lub

Infuzja z mózgu i serca z 6,5% dodatkiem chlorku sodu

Materiały wymagane, ale niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki, szczepy do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Procedura testowa

Stosować techniki aseptyczne.

W przypadku płynnych próbek pożywki przechowywane w probówkach należy zaszczyć jedną lub dwiema kroplami próbki, stosując sterylną pipetę. Próbkę pobraną jako wymaz na tamponie można wprowadzić do bulionu po naniesieniu ich na podłoża na płytkach.

Pożywki płynne przeznaczone do inkubacji beztlenowej należy zredukować przed inkubacją poprzez umieszczenie probówek z poluzowanymi zatyczkami w środowisku beztlenowym na okres od 18 do 24 godzin przed użyciem. Skuteczną i łatwą metodą uzyskania odpowiednich warunków beztlenowych jest zastosowanie systemu beztlenowego **BD GasPak EZ**.

Ewentualnie podłoża płynne można zredukować bezpośrednio przez użycie przez gotowanie na łaźni wodnej* przy poluzowanych zatyczkach, a następnie ochłodzenie do temperatury pokojowej przy zakręconych zatyczkach przed wykonaniem posiewu.

Delikatnie zaszczyć bulion z 6,5% dodatkiem NaCl jedną lub dwiema koloniami podejrzanych bakterii. Inkubować w warunkach tlenowych w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$ przez noc. Sprawdzić pod względem wzrostu, ponownie przeprowadzić inkubację negatywnych wyników przez dodatkowe 24 godziny.

***UWAGA:** Nie zaleca się korzystania z kuchenki mikrofalowej.

Kontrola jakości przez użytkownika

Zobacz „Procedury kontroli jakości”.

Należy postępować zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, krajowych i (lub) federalnych, wymogami akredytacji i rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium. Zaleca się, aby użytkownik stosował się do odpowiednich zaleceń CLSI i przepisów CLIA, dotyczących sposobów kontroli jakości.

X WYNIKI

Wzrost w probówkach jest widoczny jako zmętnienie w porównaniu z niezaszczepioną kontrolą.

W przypadku pojawienia się wzrostu należy przeprowadzić barwienie metodą Grama oraz hodowlę pochodną np. na agarze sojowym **Trypticase** z 5% dodatkiem krwi baraniej (TSA II) i/lub na płycie z agarem czekoladowym (Chocolate II Agar), płycie z agarem EMB Agar lub agarem MacConkey II Agar. W przypadku podejrzenia obecności beztlenowców hodowle pochodne powinny być inkubowane w warunkach beztlenowych, takich jak system beztlenowy **GasPak EZ**.

Wzrost enterokoków będzie widoczny w bulionie z 6,5% dodatkiem NaCl w ciągu 24 do 48 godz. Paciorkowce z grupy D, niebędące enterokokami, nie wzrosną na pożywce po 48 godzinach inkubacji.²

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Do identyfikacji niezbędne są czyste kultury drobnoustrojów. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne i/lub serologiczne. W celu uzyskania szczegółowych informacji oraz zalecanych procedur należy zapoznać się z odpowiednią literaturą.⁷⁻⁹

Pożywki hodowlane zawierają czasami martwe organizmy pochodzące ze składników pożywki, które mogą być widoczne w rozmazach z pożywek hodowlanych. Do innych źródeł martwych organizmów widocznych po zabarwieniu metodą Grama należą barwniki, olejki emulsyjne, fragmenty szkła oraz próbki stosowane do posiewu. W przypadku wystąpienia niepewności związanej z prawidłowością barwienia metodą Grama należy przeprowadzić ponowną inkubację hodowli przez kolejną godzinę lub dwie, a następnie powtórzyć test przed wydaniem wyniku.

Z ludzkich zakażeń wyizolowano również szczepy innych katalazo-ujemnych, gram-dodatnich ziarniaków np. *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* oraz *Vagococcus*. Z tego powodu nie można przeprowadzić domniemanej identyfikacji enterokoków tylko w oparciu o reakcję z żółcią i eskuliną oraz wzrost w bulionie z 6,5% dodatkiem NaCl.¹⁰

XII CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

Infuzja z mózgu i serca

Przed dopuszczeniem do obrotu wszystkie serie infuzji z mózgu i serca sprawdza się pod względem skuteczności. Za pomocą sterylnej pipety reprezentatywne próbki serii są szczepione 0,1 mL (w przypadku objętości równych lub mniejszych od 5 mL) lub 1,0 mL (w przypadku objętości większych niż 5 mL) bulionu sojowego **Trypticase** lub podłoża z tioglikolanem, wzbogaconego kulturami zawierającymi 1000 lub mniej jednostek tworzących kolonie (Colony Forming Units, CFU) *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) oraz *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615). Probówki są inkubowane przy poluzowanych zatyczkach w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$, a odczyt wzrostu jest wykonywany po 18 do 24 godz. oraz 42 do 48 godz. We wszystkich kulturach po 48 godz. można stwierdzić wzrost od umiarkowanego do intensywnego.

Infuzja z mózgu i serca z 6,5% dodatkiem chlorku sodu

Przed dopuszczeniem do obrotu wszystkie serie infuzji z mózgu i serca z 6,5% chlorkiem sodu sprawdza się pod względem skuteczności. Za pomocą 0,01 mL skalibrowanej ezy reprezentatywne próbki serii są testowane rozcieńczonymi w bulionie sojowym **Trypticase** hodowlami 10^{-1} *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) oraz *Streptococcus gallolyticus* (ATCC 9809). Probówki są inkubowane w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$, a odczyt wzrostu jest wykonywany po 18 do 24 godz. oraz 42 do 48 godz. *E. faecalis* wykazuje wzrost od umiarkowanego do intensywnego, a wzrost *S. gallolyticus* jest całkowicie zahamowany.

Dodatkowo reprezentatywne próbki są testowane chemicznie próbkami azotanu srebra pod kątem zawartości chlorku sodu. Obliczony procent zawartości chlorku sodu wynosi od 6,0 do 7,0.

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Numer kat.	Opis
221778	BD BBL Infuzja z mózgu i serca, 0,5 mL, pojemnik zawierający 100 probówek typu K
297769	BD BBL Infuzja z mózgu i serca, 2 mL, pojemnik zawierający 100 probówek typu K
221812	BD BBL Infuzja z mózgu i serca, 5 mL, opakowanie zawierające 10 probówek typu K
221813	BD BBL Infuzja z mózgu i serca, 5 mL, pojemnik zawierający 100 probówek typu K
220837	BD BBL Infuzja z mózgu i serca, 8 mL, pojemnik zawierający 100 probówek typu K
221785	BD BBL Infuzja z mózgu i serca z 6,5% dodatkiem chlorku sodu, opakowanie zawierające 10 probówek typu K

XIV PIŚMIENNICTWO

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.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę 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.