



BBL Brain Heart Infusion

BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride



L007440 • Rev. 12 • September 2014

POSTUPY PRI KONTROLE KVALITY

I ÚVOD

Mozgovo-srdcová infúzia (Brain Heart Infusion, BHI) je tekutá pôda na všeobecné použitie využívaná na rast rozličných druhov baktérií a húb. Mozgovo-srdcová infúzia so 6,5 % chloridu sodného sa využíva na odlíšenie enterokokov od neenterokokových streptokokov skupiny D.

II REALIZÁCIA TESTU

1. Naočkujte reprezentatívne vzorky nižšie uvedenými kultúrami.
 - a. Zriedte 24- až 48-hodinové kultúry na sójovom bujóne **Trypticase** Soy Broth a použite ich ako očkovacie kultúry.
 - b. Očkovanie pôd
 - 1) V prípade pôdy BHI naočkujte skúmavky s testovanými vzorkami roztokom každej kultúry. Roztok musí obsahovať najviac 1000 kolónií životaschopných organizmov (CFU). Objemy väčšie ako 5 mL naočkujte 1,0 mL očkovacej kultúry. Objemy rovné alebo menšie ako 5 mL naočkujte 0,1 mL očkovacej kultúry.
 - 2) V prípade pôdy BHI so 6,5 % chloridu sodného naočkujte skúmavky s testovanými vzorkami pomocou kalibrovanej kľučky s objemom 0,01 mL 18- až 24-hodinovými kultúrami zo sójového bujónu **Trypticase** Soy Broth zriedenými v pomere 10^{-1} .
 - c. Skúmavky inkubujte s pootvorenými uzávermi pri teplote $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ v aeróbnom prostredí.
2. Po 24 a 48 hodinách skontrolujte v skúmavkách s mozgovo-srdcovou infúziou rast mikroorganizmov. V skúmavkách s BHI so 6,5 % chloridu sodného skontrolujte rast a selektivitu po 18 až 24 hodinách.
3. Očakávané výsledky
 - a. Mozgovo-srdcová infúzia (Brain Heart Infusion)
Testovacie organizmy CLSI (kmene ATCC)
**Escherichia coli* rast
(25922)
**Staphylococcus aureus* rast
(25923)
Ďalšie využívané kmene:
Pseudomonas aeruginosa rast
ATCC 27853
Enterococcus faecalis rast
ATCC 29212
Streptococcus pyogenes rast
ATCC 19615
 - b. BHI so 6,5 % chloridu sodného
**Enterococcus faecalis* rast
ATCC 29212
**Streptococcus gallolyticus* žiadny rast
ATCC 9809

*Kmeň odporúčaný na kontrolu kvality používateľom.

III DODATOČNÁ KONTROLA KVALITY

1. Skontrolujte skúmavky podľa popisu v časti Znehodnotený produkt.
2. Vizualne skontrolujte niekoľko skúmaviek, aby ste zistili prípadné poškodenie, ktoré by bránilo ich použitie.
3. Inkubujte niekoľko nenačkovaných skúmaviek pri teplote 20 až 25 °C a 30 až 35 °C. Po 7 dňoch skontrolujte mikrobiálnu kontamináciu.

INFORMÁCIE O PRODUKTE

IV POUŽITIE

Mozgovo-srdcová infúzia (Brain Heart Infusion, BHI) je tekutá pôda na všeobecné použitie využívaná pri kultivácii náročných a nenáročných mikroorganizmov vrátane aeróbných a anaeróbných baktérií z rôznych klinických a neklinických materiálov.

Bujón, ktorý obsahuje 6,5 % chloridu sodného, sa využíva na odlíšenie enterokokov od neenterokokových streptokokov skupiny D.

V ZHRNUTIE A VYSVETLENIE

Bujón BHI sa využíva na kultiváciu širokej škály mikroorganizmov vrátane baktérií, kvasiniek a plesní.¹

Bujón BHI so 6,5 % chloridu sodného sa využíva na odlíšenie enterokokov (napríklad *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* a *E. avium*) od neenterokokových druhov (*S. gallolyticus* a *S. equinus*) na základe testu tolerancie 6,5 % soli.²

VI PRINCÍPY POSTUPU

Bujón BHI je nutričná pufrovaná kultivačná pôda, ktorá obsahuje infúzie mozgového a srdcového tkaniva a peptóny ako zdroj proteínu a iných živín potrebných na podporu rastu náročných i nenáročných mikroorganizmov. V prípade bujónu s obsahom 6,5 % chloridu sodného slúži soľ na základe vplyvu na priepustnosť membrány a osmotickej a elektrokinetickej rovnováhy v organizmoch s intoleranciou solí ako diferenčný a/alebo selektívny činiteľ.¹

VII ZLOŽENIE

Mozgovo-srdcová infúzia

Približné zloženie* na liter purifikovanej vody

Mozgovo-srdcová infúzia (pevné látky)	6,0 g
Bakteriologický peptón zo živočíšneho tkaniva	6,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Dextróza	3,0 g
Želatínový hydrolyzát	14,5 g
Fosforečnan disodný	2,5 g

*Upravené a/alebo doplnené podľa potreby tak, aby boli dosiahnuté požadované analytické parametre.

Mozgovo-srdcová infúzia (BHI) so 6,5 % chloridu sodného obsahuje okrem vyššie uvedených zložiek 60 g/L chloridu sodného.

Varovania a upozornenia

Len na diagnostické použitie *in vitro*.

Výsledky priameho Gramovho farbenia alebo výsledky iného priameho mikrobiologického farbenia vzoriek tkaniva spracovaných týmto médiom treba interpretovať uvažlivo vzhľadom na možnú prítomnosť organizmov, ktoré nie sú životaschopné, v kultivačnom médiu.

Uzatvorené skúmavky otvárajte opatrne, aby ste ich nerozbili a nezranili sa úlomkami skla.

V klinických vzorkách sa môžu vyskytovať patogénne mikroorganizmy vrátane vírusov hepatitídy a vírusu HIV. Pri práci so všetkými materiálmi kontaminovanými krvou a inými telesnými tekutinami dodržujte štandardné pracovné postupy³⁻⁶ a smernice príslušných inštitúcií. Pred likvidáciou sterilizujte všetky použité skúmavky, nádoby so vzorkami a iný kontaminovaný materiál autoklávom.

Pokyny na uskladnenie

Dodané skúmavky skladujte na tmavom mieste pri teplote 2 – 25 °C. Nezmrazujte ani nevystavujte nadmernej teplote. Otvorte až pred použitím. Chráňte pred svetlom. Pôdy v skúmavkách skladovaných podľa pokynov a otvorených až tesne pred použitím je možné očkovať až do dátumu použiteľnosti a inkubovať počas odporúčaného času inkubácie. Pred inkubáciou pôdu nechajte zohriať na laboratórnu teplotu.

Znehodnotený výrobok

Skúmavky nepoužívajte, ak nesú známky mikrobiálnej kontaminácie, zmeny farby, vysušenia alebo iné znaky poškodenia.

VIII ODBER VZORIEK A MANIPULÁCIA S NIMI

Vzorky vhodné na kultivovanie sa môžu odoberať rôznymi spôsobmi. Podrobnejšie informácie nájdete v príslušnej literatúre.^{7,8} Vzorky by sa mali odoberať ešte pred začiatkom liečby bakteriostatikami. Je potrebné zabezpečiť rýchlu prepravu vzoriek do laboratória.

IX POSTUP

Dodávaný materiál

Mozgovo-srdcová infúzia (Brain Heart Infusion) alebo

Mozgovo-srdcová infúzia (Brain Heart Infusion) so 6,5 % chloridu sodného.

Potrebný materiál, ktorý nie je súčasťou dodávky

Prídavné kultivačné médiá, činidlá, organizmy určené na kontrolu kvality a potrebné laboratórne vybavenie.

Postup pri teste

Dodržiavajte postupy antiseptickej práce.

V prípade tekutých vzoriek je potrebné naočkovať pôdu v skúmavke pomocou sterilnej pipety jednou alebo dvoma kvapkami vzorky. Vzorky na tampónoch môžete po naočkovaní pôdy v miskách vložiť do bujónu.

Kvapalnú pôdu určenú na anaeróbnú inkubáciu je potrebné pred inkubáciou zredukovať umiestnením skúmaviek s uvoľnenými uzávermi na 18 až 24 hodín do anaeróbného prostredia. Vhodné anaeróbné prostredie efektívne a ľahko vytvoríte použitím anaeróbných vreciek **BD GasPak EZ**.

Kvapalnú pôdu môžete zredukovať aj tesne pred použitím, ak skúmavky s uvoľnenými uzávermi pred očkovaním ponoríte do kúpeľa s vriacou vodou* a následne utesníte uzávery a skúmavky ochladíte na izbovú teplotu.

Bujón s 6,5 % NaCl zľahka naočkujte jednou alebo dvoma kolóniami predpokladanej baktérie.

Inkubujte v aeróbnom prostredí po celý deň pri teplote $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Kontrolujte rast mikroorganizmov.

V prípade negatívnych výsledkov inkubujte počas ďalších 24 hodín.

***POZNÁMKA.** Použitie mikrovlnnej rúry sa neodporúča.

Kontrola kvality používateľom

Informácie nájdete v časti Postupy pri kontrole kvality.

Kontrola kvality sa musí uskutočniť v súlade s nariadeniami alebo akreditačnými požiadavkami platnými na miestnej, celoštátnej a/alebo federálnej úrovni a štandardnými laboratórnymi postupmi pri kontrole kvality. Ďalšie informácie o vhodných postupoch pri kontrole kvality nájdete v usmernení vydanom Národným výborom pre klinické a laboratórne normy (CLSI) a nariadeniach Federálneho zákona o zvýšení kvality klinických laboratórií (CLIA).

X VÝSLEDKY

Rast v skúmavkách naznačuje zákal, ktorý v nenaočkovaných kontrolných skúmavkách nevzniká.

V prípade rastu je potrebné kultúry testovať farbením podľa Grama a subkultiváciou na vhodnej pôde, napríklad na sójovom agare **Trypticase Soy Agar** s 5 % ovčej krvi (TSA II) a/alebo čokoládovom agare **Chocolate II Agar**, agare **EMB** alebo **MacConkey II**. Pri predpokladanom výskyte anaeróbov je potrebné inkubovať subkultúry v anaeróbnom prostredí, napríklad pomocou anaeróbných vreciek **GasPak EZ**.

Enterokoky rastú na bujóne so 6,5 % NaCl v priebehu 24 až 48 hodín. Neenterokokálne streptokoky skupiny D nerastú na danej pôde ani po 48-hodinovej inkubácii.²

XI OBMEDZENIA POSTUPU

Na identifikáciu organizmov je potrebné použiť čistú kultúru. Konečná identifikácia si vyžaduje ďalšie morfológické, biochemické a/alebo sérologické testy. Podrobnejšie informácie a odporúčané postupy nájdete v príslušnej literatúre.⁷⁻⁹

Kultivačné médiá niekedy obsahujú usmrtené organizmy pochádzajúce z ich zložiek, ktoré môžu byť viditeľné v náteroch týchto médií. Inými zdrojmi usmrtených organizmov viditeľných po farbení podľa Grama sú farbiace činidlá, imerzný olej, podložné sklíčka a vzorky používané na očkovanie. Ak sú pochybnosti o validite farbenia podľa Grama, kultúru je potrebné znovu inkubovať ďalšiu jednu až dve hodiny a zopakovať test pred konečným hodnotením.

Pri infekčných ochoreniach človeka boli izolované kmene ďalších kataláza negatívnych grampozitívnych kokov, napríklad *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* a *Vagococcus*. Preto nie je možné predbežne identifikovať enterokoky iba na základe žĺč-eskulínovej reakcie a rastu v bujóne so 6,5 % NaCl.¹⁰

XII VLASTNOSTI TESTU

Mozgovo-srdcová infúzia (Brain Heart Infusion)

Pred uvedením na trh sa testuje účinnosť každej súpravy s mozgovo-srdcovou infúziou. Pomocou sterilnej pipety sa naočkujú reprezentatívne vzorky zo súpravy 0,1 mL (v prípade objemov rovných alebo nižších ako 5 mL) alebo 1,0 mL (v prípade objemov vyšších ako 5 mL) kultúr zo sójového bujónu **Trypticase** Soy Broth alebo obohatenej tioglykolátovej pôdy Thioglycollate Medium, Enriched, ktoré obsahujú najviac 1000 kolónií životaschopných organizmov (CFU) baktérií *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) a *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615). Skúmavky sa inkubujú s uvoľnenými uzávermi pri teplote 35 °C ± 2 °C. Po 18 až 24 hodinách a po 42 až 48 hodinách sa skontroluje rast v skúmavkách. U všetkých kultúr nastane do 48 hodín mierny až výrazný rast.

Mozgovo-srdcová infúzia (Brain Heart Infusion) so 6,5 % chloridu sodného

Pred uvedením na trh sa testuje účinnosť každej súpravy s mozgovo-srdcovou infúziou so 6,5 % chloridu sodného. Reprezentatívne vzorky z každej súpravy sa testujú pomocou kalibračnej kľučky s obsahom 0,01 mL, pričom sa využívajú baktérie *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) a *Streptococcus gallolyticus* (ATCC 9809) kultivované na sójovom bujóne **Trypticase** Soy Broth. Kultúry sú zriedené v pomere 10⁻¹. Skúmavky sa inkubujú pri teplote 35 °C ± 2 °C. Po 18 až 24 hodinách a po 42 až 48 hodinách sa skontroluje rast v skúmavkách. Baktéria *E. faecalis* dosahuje mierny až výrazný rast. Rast baktérie *S. gallolyticus* je potlačený.

V reprezentatívnych vzorkách sa okrem toho chemicky kontroluje obsah chloridu sodného pomocou titrácie dusičnanu strieborného. Vypočítaný obsah chloridu sodného je 6,0 až 7,0 percent.

XIII DOSTUPNOSŤ

Kat. č. Opis

221778	BD BBL Brain Heart Infusion (mozgovo-srdcová infúzia), 0,5 mL, balenie 100 skúmaviek veľkosti K
297769	BD BBL Brain Heart Infusion (mozgovo-srdcová infúzia), 2 mL, balenie 100 skúmaviek veľkosti K
221812	BD BBL Brain Heart Infusion (mozgovo-srdcová infúzia), 5 mL, balenie 10 skúmaviek veľkosti K
221813	BD BBL Brain Heart Infusion (mozgovo-srdcová infúzia), 5 mL, balenie 100 skúmaviek veľkosti K
220837	BD BBL Brain Heart Infusion (mozgovo-srdcová infúzia), 8 mL, balenie 100 skúmaviek veľkosti K
221785	BD BBL Brain Heart Infusion (mozgovo-srdcová infúzia) so 6,5 % chloridu sodného, balenie 10 skúmaviek veľkosti K

XIV POUŽITÁ LITERATÚRA

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.

Technický servis BD Diagnostics: obráťte sa na miestneho zástupcu spoločnosti BD alebo 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.