



L007440 • Rev. 12 • September 2014

POSTUPY KONTROLY KVALITY

I ÚVOD

Brain Heart Infusion (Infuze mozkové a srdeční tkáně) (BHI) je tekuté médium ke všeobecnému použití pro růst široké škály bakterií a hub. Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride (Infuze mozkové a srdeční tkáně s 6,5% chloridem sodným) se používá k odlišení enterokoků od neenterokokové skupiny D streptokoků.

II POSTUPY TESTU ÚČINNOSTI

1. Naočkujte reprezentativní vzorky níže uvedenými kulturami.
 - a. Z 24hodinových až 48hodinových kultur sójové živné půdy **Trypticase** Soy Broth připravte ředění k použití jako inokulum.
 - b. Inokulace média
 - 1) Pro BHI inokulujte zkumavky testovaných vzorků každou zředěnou kulturou. Ředění musí obsahovat 1 000 nebo méně CFU. Plnicí objemy větší než 5 mL by měly být inokulovány 1,0 mL. Plnicí objemy velikosti 5 mL nebo menší by měly být inokulovány 0,1 mL.
 - 2) Pro BHI s 6,5% chloridem sodným inokulujte zkumavky testovaných vzorků pomocí ředění 10^{-1} 18hodinových až 24hodinových kultur sójové živné půdy **Trypticase** Soy Broth pomocí 0,01 mL kalibrované kličky.
 - c. Inkubujte zkumavky s uvolněnými víčky při teplotě $35 \pm 2^\circ\text{C}$ v aerobním prostředí.
2. Zkontrolujte Brain Heart Infusion za 24 a 48 hodin, zda v ní dochází k růstu. Zkontrolujte zkumavky BHI s 6,5% chloridem sodným za 24 – 48 hodin, zda v nich dochází k růstu a selektivitě.
3. Očekávané výsledky

Brain Heart Infusion

Organismy CLSI	ATCC	Výtěžnost
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Růst
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Růst

Další organismy

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

BHI s 6,5% chloridem sodným

Organismy	ATCC	Výtěžnost
* <i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Růst
* <i>Streptococcus gallolyticus</i>	9809	Žádný růst

*Doporučený kmen organismu pro kontrolu kvality uživatelem.

III DODATEČNÁ KONTROLA KVALITY

1. Zkontrolujte zkumavky, jak je popsáno ve „Zhoršování kvality výrobku“.
2. Vizualně zkontrolujte reprezentativní zkumavky, abyste zajistili, že žádné přítomné fyzické defekty neinterferují s použitím.
3. Inkubujte neinokulované reprezentativní zkumavky při teplotě 20 – 25 °C a 30 – 35 °C a po 7 dnech zkontrolujte, zda nedošlo k mikrobiální kontaminaci.

INFORMACE O PRODUKTU

IV ÚČEL POUŽITÍ

Brain Heart Infusion (BHI) je tekuté médium k všeobecnému použití pro kultivaci náročných a nenáročných mikroorganismů, včetně aerobních a anaerobních bakterií z mnoha klinických i neklinických materiálů.

Živná půda, která obsahuje 6,5% chlorid sodný, se používá k odlišení enterokoků od neenterokokové skupiny D streptokoků.

V SHRUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Živná půda BHI se používá ke kultivaci široké škály mikroorganismů včetně bakterií, kvasinek a plísní.¹

BHI s 6,5% chloridem sodným se používá k odlišení enterokoků (např. *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* a *E. avium*) od neenterokokových druhů (*S. gallolyticus* a *S. equinus*) testem tolerance 6,5 % soli.²

VI ZÁSADY POSTUPU

Živná půda BHI je výživné pufrované kultivační médium, které obsahuje infuzi mozkové a srdeční tkáně a peptonů, aby dodalo proteiny a další nutrienty nezbytné pro podporu růstu náročných i nenáročných mikroorganismů. Ve složení s 6,5% chloridem sodným se sůl chová jako diferencující anebo selektivní látka interferující s permeabilitou membrán a osmotickou a elektrokinetickou rovnováhou u sůl netolerujících organismů.¹

VII ČINIDLA

Brain Heart Infusion

Přibližné složení* na litr čištěné vody

Mozek a srdce, infuze z (sušiny)	6,0 g
Peptická natrávenina zvířecí tkáně	6,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Dextróza	3,0 g
Pankreatická natrávenina želatiny	14,5 g
Fosfát disodný	2,5 g

*Upraveno anebo doplněno dle požadavků tak, aby byla splněna kritéria účinnosti.

Brain Heart Infusion with 6,5% Sodium Chloride obsahuje 60 g/L chloridu sodného jako doplněk k výše uvedeným přísadám.

Varování a bezpečnostní opatření: Pro diagnostiku *in vitro*.

Při hlášení výsledků přímého Gramova barvení nebo jiného přímého mikrobiologického barvení na vzorcích tkání zpracovaných pomocí tohoto média je nutné postupovat opatrně vzhledem k možné přítomnosti neživotaschopných organismů v kultivačním médiu.

Zkumavky utěsněné víčky by měly být otevírány opatrně, aby nedošlo ke zranění při případném rozbití skla.

V klinických vzorcích se mohou nacházet patogenní mikroorganismy včetně virů hepatitidy a virů lidské imunodeficiency (HIV). Proto dodržujte při práci s veškerým materiálem kontaminovaným krví a jinými tělními tekutinami standardní bezpečnostní opatření a předpisy vaší instituce³⁻⁶.

Zkumavky s preparáty, nádoby se vzorky a další kontaminované materiály je nutné po jejich použití sterilizovat v autoklávu a poté zlikvidovat.

Pokyny ke skladování: Po převzetí skladujte zkumavky v temnu při teplotě 2 – 25 °C. Chraňte před mrazem a přehřátím. Otevřete až bezprostředně před použitím. Minimalizujte vystavení slunečnímu záření. Média ve zkumavce skladovaná dle označení až do použití mohou být inokulována až do data spotřeby a inkubována po doporučenou dobu inkubace. Před inokulací počkejte, až se médium ohřeje na pokojovou teplotu.

Zhoršování kvality výrobku: Výrobek nepoužívejte, pokud vykazuje mikrobiální kontaminaci, změnu barvy, vysušení nebo jiné známky zhoršení kvality.

VIII ODBĚR VZORKŮ A MANIPULACE S NIMI

Pro manipulaci se vzorky vhodnými ke kultivaci lze využít několik různých metod. Detailní informace naleznete v příslušné literatuře.^{7,8} Vzorky by měly být získány ještě předtím, než jsou aplikována antimikrobiální činidla. Je nutné zajistit jejich promptní přepravu do laboratoře.

IX POSTUP

Dodaný materiál: Brain Heart Infusion nebo Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky: Pomocná kultivační média, činidla, organismy pro kontrolu kvality a další laboratorní vybavení dle potřeby.

Provedení testu: Dodržujte aseptické postupy.

U tekutých vzorků by média ve zkumavce měla být inokulována jednou nebo dvěma kapkami vzorku pomocí sterilní pipety. Vzorky na tampónu mohou být vloženy do živné půdy po inokulaci média na misce.

Tekutá média pro anaerobní inkubaci by měla být před inkubací redukována umístěním zkumavek s uvolněnými víčky do anaerobního prostředí na dobu 18 – 24 hodin před použitím. Efektivní a snadná cesta, jak dosáhnout vhodných anaerobních podmínek, je pomocí anaerobního systému **BD GasPak EZ**.

Případně mohou být tekutá média redukována okamžitě před použitím k inokulaci převařením ve vodní lázni* s uvolněnými víčky a zchlazena na pokojovou teplotu s utaženými víčky.

Lehce inokulujte 6,5% NaCl živnou půdu jednou nebo dvěma koloniemi podezřelé bakterie.

Aerobně inkubujte přes noc za teploty 35 ± 2 °C. Zkontrolujte růst; opakovaně inkubujte negativní testy dalších 24 h.

***POZNÁMKA:** Použití mikrovlnné trouby není doporučeno.

Kontrola kvality uživatelem: Viz „Postupy kontroly kvality“.

Požadavky kontroly kvality musí být provedeny v souladu s platnými místními, státními a federálními zákony nebo požadavky pro akreditaci a se standardními postupy kontroly kvality vaší laboratoře. Doporučujeme, aby si uživatel prostudoval informace o správném provádění kontroly jakosti v příslušných směrnících CLSI (dříve NCCLS) a předpisech CLIA.

X VÝSLEDKY

Růst ve zkumavkách je signalizován přítomností zákalu v porovnání s neinokulovanou kontrolou.

Pokud se objeví růst, kultury by měly být vyšetřeny Gramovým barvením a subkultivovány na příslušném médiu, např. Tryptikáza-sójovém agaru (**Trypticase Soy Agar**) s 5% ovčí krví (TSA II) anebo misce čokoládového agaru II, agaru EMB nebo miskách s agarem MacConkey II. Pokud jsou očekáváni anaerobi, subkultury by měly být inkubovány anaerobně, jako v anaerobním systému **GasPak EZ**.

Enterokoky porostou v 6,5% NaCl živné půdě během 24 – 48 h. Neenterokoková skupina D streptokoků neroste v médiu po 48 h inkubace.²

XI OMEZENÍ POSTUPU

Pro účely identifikace musí být organismy v čisté kultuře. Pro konečnou identifikaci je nutné provést morfologické, biochemické anebo serologické testy. Podrobné informace a doporučené postupy naleznete v příslušných publikacích.⁷⁻⁹

Kultivační média někdy obsahují mrtvé organismy (jejichž zdrojem jsou složky médií), které mohou být viditelné na nátěrech kultivačních médií. Další zdroje mrtvých organismů viditelných za Gramova barvení zahrnují barvicí činidla, imerzní olej, podložní sklíčka a vzorky použité k inokulaci. Pokud není jistá validita Gramova barvení, kultury by měly být znovu inkubovány další hodinu nebo dvě a test zopakován před vydáním zprávy.

Kmeny dalších katalázanegativních grampozitivních koků, např. *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, a *Vagococcus*, byly izolovány z lidských infekcí. Proto není možná pravděpodobná identifikace enterokoků založená pouze na žluč-eskulinové reakci a růstu v 6,5% NaCl živné půdě.¹⁰

XII SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI

Brain Heart Infusion

Před vydáním jsou všechny šarže Brain Heart Infusion testovány na funkční charakteristiky. Pomocí sterilní pipety jsou reprezentativní vzorky šarže inokulovány s 0,1 mL (pro plnicí objemy 5 mL nebo méně) nebo 1,0 mL (pro plnicí objemy větší než 5 mL) tryptikáza-sójové živné půdy (**Trypticase Soy Broth**) nebo thioglykolátového média, obohacenými kulturami obsahujícími 1 000 CFU nebo méně pro *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) a *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615). Zkumavky jsou inkubovány s uvolněnými víčky při teplotě 35 ± 2 °C a růst odečítán po 18 – 24 hodinách a 42 – 48 hodinách. Všechny kultury vykazují střední až intenzivní růst během 48 h.

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Před vydáním jsou všechny šarže Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride testovány na funkční charakteristiky. Pomocí 0,01 mL kalibrované kličky jsou reprezentativní vzorky šarže testovány s kulturami *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) a *Streptococcus gallolyticus* (ATCC 9809) v tryptikáza-sójovém agaru (**Trypticase Soy Agar**) zředěnými 10^{-1} . Zkumavky jsou inkubovány při teplotě 35 ± 2 °C a růst odečítán za 18 – 24 hodin a 42 – 48 hodin. *E. faecalis* vykazuje střední až intenzivní růst, zatímco *S. gallolyticus* je úplně inhibován.

Navíc jsou reprezentativní vzorky chemicky testovány titrací nitrátu stříbrného na obsah chloridu sodného. Vypočítané procento chloridu sodného je 6,0 až 7,0.

XIII DOSTUPNOST

Kat. č.	Popis
---------	-------

221778	BD BBL Brain Heart Infusion, 0,5 mL, kart. po 100 zkumavkách velikosti K
--------	--

297769	BD BBL Brain Heart Infusion, 2 mL, kart. po 100 zkumavkách velikosti K
--------	--

- 221812 **BD BBL Brain Heart Infusion**, 5 mL, bal. po 10 zkumavkách velikosti K
- 221813 **BD BBL Brain Heart Infusion**, 5 mL, kart. po 100 zkumavkách velikosti K
- 220837 **BD BBL Brain Heart Infusion**, 8 mL, kart. po 100 zkumavkách velikosti K
- 221785 **BD BBL Brain Heart Infusion with 6,5% Sodium Chloride**, bal. po 10 zkumavkách velikosti K

XIV REFERENCE

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 Technická podpora: obraťte se na místního zástupce společnosti BD nebo navštivte 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.