



BBL Brain Heart Infusion

BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride



L007440 • Αναθ. 12 • Σεπτέμβριος 2014

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

I ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το Brain Heart Infusion (BHI) είναι ένα υγρό υλικό καλλιέργειας γενικής χρήσης για την ανάπτυξη ευρείας ποικιλίας ειδών βακτηριδίων και μυκήτων. Το Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride χρησιμοποιείται για τη διαφοροποίηση των εντερόκοκκων από τους μη εντεροκοκκικούς στρεπτόκοκκους της ομάδας D.

II ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

1. Ενοφθαλμίστε αντιπροσωπευτικά δείγματα με τις καλλιέργειες που παρατίθενται παρακάτω.
 - α. Από καλλιέργειες διάρκειας 24 έως 48 h σε **Trypticase** Soy Broth, παρασκευάστε αραιώσεις για χρήση ως ενοφθαλμίσματα.
 - β. Ενοφθαλμισμός υλικών καλλιέργειας
 - 1) Για το BHI, ενοφθαλμίστε σωληνάρια των δειγμάτων εξέτασης με αραιώση κάθε καλλιέργειας. Η αραιώση πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 1.000 CFU. Όγκοι πλήρωσης μεγαλύτεροι από 5 mL πρέπει να ενοφθαλμίζονται με 1,0 mL. Όγκοι πλήρωσης μικρότεροι ή ίσοι με 5 mL πρέπει να ενοφθαλμίζονται με 0,1 mL.
 - 2) Για το BHI with 6.5% Sodium Chloride, ενοφθαλμίστε τα σωληνάρια των δειγμάτων εξέτασης με χρήση διαλυμάτων αραιώσεων 10^{-1} καλλιεργιών διάρκειας 18 έως 24 h σε **Trypticase** Soy Broth με χρήση βαθμονομημένου κρίκου 0,01 mL.
 - γ. Επώαστε τα σωληνάρια με ξεσφιγμένα καπάκια στους $35 \pm 2^\circ\text{C}$ σε αερόβια ατμόσφαιρα.
2. Εξετάστε τα σωληνάρια του Brain Heart Infusion στις 24 και 48 h για ανάπτυξη. Εξετάστε τα σωληνάρια του BHI with 6.5% Sodium Chloride στις 18 έως 24 h για ανάπτυξη και εκλεκτικότητα.
3. Αναμενόμενα αποτελέσματα
 - α. Brain Heart Infusion
Μικροοργανισμοί ελέγχου της CLSI (στελέχη ATCC)
**Escherichia coli* Ανάπτυξη (25922)
**Staphylococcus aureus* Ανάπτυξη (25923)
Επιπλέον στελέχη που χρησιμοποιούνται:
Pseudomonas aeruginosa Ανάπτυξη ATCC 27853
Enterococcus faecalis Ανάπτυξη ATCC 29212
Streptococcus pyogenes Ανάπτυξη ATCC 19615
 - β. BHI with 6.5% Sodium Chloride
**Enterococcus faecalis* Ανάπτυξη ATCC 29212
**Streptococcus gallolyticus* Χωρίς ανάπτυξη ATCC 9809

*Συνιστώμενο στέλεχος μικροοργανισμού για ποιοτικό έλεγχο χρήστη.

III ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

1. Εξετάστε τα σωληνάρια όπως περιγράφεται στην ενότητα "Αλλοίωση του προϊόντος".
2. Εξετάστε αντιπροσωπευτικά σωληνάρια οπτικά για να βεβαιωθείτε ότι τυχόν υπάρχοντα φυσικά ελαττώματα δε θα επηρεάσουν δυσμενώς κατά τη χρήση.
3. Επώαστε τα μη ενοφθαλμισμένα αντιπροσωπευτικά σωληνάρια στους 20 έως 25 °C και στους 30 έως 35 °C και εξετάστε μετά από 7 ημέρες για τυχόν μικροβιακή μόλυνση.

ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

IV ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Το Brain Heart Infusion (BHI) είναι ένα υγρό υλικό καλλιέργειας γενικής χρήσης, το οποίο χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια απαιτητικών και μη απαιτητικών μικροοργανισμών,

συμπεριλαμβανομένων των αερόβιων και αναερόβιων βακτηριδίων, από μια ποικιλία κλινικών και μη κλινικών υλικών.

Το υλικό καλλιέργειας ζωμού που περιέχει χλωριούχο 6,5% χρησιμοποιείται για οD.

V ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Το BHI Broth χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια ευρείας ποικιλίας μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των βακτηριδίων, των ζυμομυκήτων και των ευρωτομυκήτων.¹

Το BHI with 6.5% Sodium Chloride χρησιμοποιείται για τη διαφοροποίηση των εντερόκοκκων (π.χ., *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* και *E. avium*) από τα μη εντεροκοκκικά είδη (*S. gallolyticus* και *S. equinus*) με την εξέταση ανοχής σε αλατούχο διάλυμα 6,5%.²

VI ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το BHI Broth είναι ένα θρεπτικό, ρυθμισμένο υλικό καλλιέργειας που περιέχει διαλύματα έγχυσης εγκεφαλικού και καρδιακού ιστού, καθώς και πεπτόνες για την παροχή πρωτεΐνης και άλλων θρεπτικών συστατικών απαραίτητων για την υποστήριξη της ανάπτυξης των απαιτητικών και μη απαιτητικών μικροοργανισμών. Στο σκεύασμα που περιέχει χλωριούχο νάτριο 6,5%, το άλας δρα ως διαφορικός ή/και εκλεκτικός παράγοντας με παρεμβολή στη διαπερατότητα των μεμβρανών, καθώς και στην οσμωτική και την ηλεκτροκινητική ισορροπία σε μικροοργανισμούς με δυσανεξία σε άλατα.¹

VII ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Brain Heart Infusion

Σύνθεση* κατά προσέγγιση ανά λίτρο κεκαθαμένου νερού

Προϊόν έγχυσης καρδιακού ιστού (στερεά).....	6,0	g
Πεπτικό αφομοίωμα ζωικού ιστού	6,0	g
Χλωριούχο νάτριο	5,0	g
Δεξτρόζη	3,0	g
Παγκρεατικό αφομοίωμα ζελατίνης	14,5	g
Όξινο φωσφορικό νάτριο	2,5	g

*Ρυθμιζόμενο ή/και συμπληρωμένο όπως απαιτείται, έτσι ώστε να πληρούνται τα κριτήρια απόδοσης.

Το Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride περιέχει 60 g/L εκτός από τα συστατικά που παρατίθενται παραπάνω.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Κατά την αναφορά αποτελεσμάτων άμεσης χρώσης κατά Gram ή/και άλλων αποτελεσμάτων άμεσης μικροβιολογικής χρώσης σε δείγματα ιστού που έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία με αυτό το μέσο, απαιτείται προσοχή λόγω της πιθανής παρουσίας μη βιώσιμων σωματιδίων στο θρεπτικό μέσο της καλλιέργειας.

Τα σωληνάρια με σφιγμένα καπάκια θα πρέπει να ανοίγονται προσεκτικά για την αποφυγή τυχόν τραυματισμού λόγω θραύσης του γυαλιού.

Σε κλινικά δείγματα ενδέχεται να υπάρχουν παθογόνοι μικροοργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων των ιών της ηπατίτιδας και του ιού της ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου. Κατά το χειρισμό όλων των ειδών που είναι μολυσμένα με αίμα και άλλα σωματικά υγρά, θα πρέπει να ακολουθούνται οι "Τυπικές προφυλάξεις"³⁻⁶ και οι κατευθυντήριες οδηγίες των ιδρυμάτων. Μετά τη χρήση, τα παρασκευασμένα σωληνάρια, τα δοχεία δείγματος και άλλα μολυσμένα υλικά πρέπει να αποστειρώνονται σε αυτόκαυστο πριν από την απόρριψη.

Οδηγίες φύλαξης

Κατά την παραλαβή, φυλάσσετε τα σωληνάρια στο σκότος στους 2 – 25 °C. Αποφεύγετε την κατάψυξη και την υπερβολική θέρμανση. Μην ανοίγετε έως ότου να είστε έτοιμοι για χρήση. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως. Υλικά καλλιέργειας σε σωληνάρια, τα οποία φυλάσσονται σύμφωνα με την επισήμανση έως ακριβώς πριν από τη χρήση, είναι δυνατό να ενοφθαλμιστούν έως την ημερομηνία λήξης και να επωάζονται για τους συνιστώμενους χρόνους επώασης. Αφήστε το υλικό καλλιέργειας να θερμανθεί σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τον ενοφθαλμισμό.

Αλλοίωση των προϊόντων

Μη χρησιμοποιείτε τα σωληνάρια εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης, αποχρωματισμό, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης.

VIII ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Δείγματα κατάλληλα για καλλιέργεια είναι δυνατό να υποβληθούν σε χειρισμό με χρήση διαφόρων τεχνικών. Για λεπτομερείς πληροφορίες, συμβουλευτείτε τα κατάλληλα κείμενα.^{7,8} Τα δείγματα θα πρέπει να λαμβάνονται πριν από τη χορήγηση αντιμικροβιακών παραγόντων. Πρέπει να λαμβάνονται μέτρα για την άμεση μεταφορά στο εργαστήριο.

IX ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρεχόμενο υλικό

Brain Heart Infusion ή

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Βοηθητικά υλικά καλλιέργειας, αντιδραστήρια, μικροοργανισμοί ποιοτικού ελέγχου και εργαστηριακός εξοπλισμός, όπως απαιτείται.

Διαδικασία της εξέτασης

Εφαρμόζετε άσηπτες τεχνικές.

Με υγρά δείγματα, τα υλικά καλλιέργειας σε σωληνάρια πρέπει να ενοφθαλμίζονται με μία ή δύο σταγόνες του δείγματος με χρήση αποστειρωμένης πιπέτας. Μετά τον ενοφθαλμισμό υλικών καλλιέργειας σε τρυβλία, είναι δυνατό να εισαχθούν δείγματα στελεών στο ζωμό.

Τα υγρά υλικά καλλιέργειας για αναερόβια επώαση πρέπει να μειώνονται σε όγκο πριν από την επώαση με τοποθέτηση των σωληναρίων, με ξεσφιγμένα τα καπάκια, υπό αναερόβιες συνθήκες επί 18 έως 24 h πριν από τη χρήση. Ένας αποτελεσματικός και εύκολος τρόπος επίτευξης κατάλληλων αναερόβιων συνθηκών είναι με τη βοήθεια του αναερόβιου συστήματος **BD GasPak EZ**.

Εναλλακτικά, τα υγρά υλικά καλλιέργειας είναι δυνατό να μειωθούν σε όγκο αμέσως πριν από τη χρήση με βρασμό σε υδατόλουτρο*, έχοντας τα καπάκια ξεσφιγμένα, και επακόλουθη ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου, με τα καπάκια σφιγμένα, πριν από τον ενοφθαλμισμό.

Ενοφθαλμίστε το ζωμό NaCl 6,5% ελαφρά με μία ή δύο αποικίες ύποπτων βακτηριδίων. Επώαστε υπό αερόβιες συνθήκες στους 35 ± 2 °C ολονυκτίως. Εξετάστε για τυχόν ανάπτυξη και επανεπώαστε τυχόν αρνητικές εξετάσεις επί 24 h.

***ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Δεν συνιστάται η χρήση φούρνου μικροκυμάτων.

Ποιοτικός έλεγχος χρήστη

Δείτε την ενότητα "Διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου".

Πρέπει να τηρούνται οι απαιτήσεις ποιοτικού ελέγχου σύμφωνα με τους ισχύοντες τοπικούς, πολιτειακούς ή/και ομοσπονδιακούς κανονισμούς ή τις απαιτήσεις πιστοποίησης και τις πρότυπες διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου του εργαστηρίου σας. Συνιστάται ο χρήστης να ανατρέχει στις σχετικές κατευθυντήριες οδηγίες της CLSI και τους κανονισμούς του CLIA για τις κατάλληλες πρακτικές ποιοτικού ελέγχου.

X ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η ανάπτυξη στα σωληνάρια υποδηλώνεται από την παρουσία θολερότητας σε σύγκριση με έναν μη ενοφθαλμισμένο μάρτυρα.

Εάν εμφανιστεί ανάπτυξη, οι καλλιέργειες πρέπει να εξετάζονται με χρώση κατά Gram και ανακαλλιέργεια πάνω σε κατάλληλα υλικά καλλιέργειας, π.χ., σε **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)** ή/και τρυβλίο **Chocolate II Agar**, τρυβλίο **EMB Agar** ή τρυβλίο **MacConkey II Agar**. Εάν υποψιάζεστε την παρουσία αναερόβιων μικροοργανισμών, οι ανακαλλιέργειες πρέπει να επωάζονται υπό αναερόβιες συνθήκες, όπως π.χ. σε αναερόβιο σύστημα **GasPak EZ**.

Οι εντερόκοκκοι αναπτύσσονται σε ζωμό NaCl 6,5% εντός 24 έως 48 ωρών. Οι μη εντεροκοκκικοί στρεπτόκοκκοι της ομάδας D δεν αναπτύσσονται στο υλικό καλλιέργειας μετά από 48 h.²

XI ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Για την ταυτοποίηση, οι μικροοργανισμοί πρέπει να είναι σε καθαρή καλλιέργεια. Για την τελική ταυτοποίηση, θα πρέπει να εκτελούνται μορφολογικές, βιοχημικές ή/και ορολογικές εξετάσεις. Συμβουλευτείτε τα κατάλληλα κείμενα για λεπτομερείς πληροφορίες και τις συνιστώμενες διαδικασίες.⁷⁻⁹

Τα υλικά καλλιέργειας μερικές φορές περιέχουν νεκρούς μικροοργανισμούς που προέρχονται από τα συστατικά του υλικού καλλιέργειας, οι οποίοι ενδέχεται να καθίστανται ορατοί σε επιχρίσματα των υλικών καλλιέργειας. Άλλες πηγές νεκρών μικροοργανισμών που καθίστανται ορατοί σε χρώση κατά Gram περιλαμβάνουν αντιδραστήρια χρώσης, έλαιο κατάδυσης, γυάλινες αντικειμενοφόροι πλάκες και

τα δείγματα που χρησιμοποιούνται για ενοφθαλμισμό. Εάν υπάρχει αβεβαιότητα για την εγκυρότητα της χρώσης κατά Gram, η καλλιέργεια πρέπει να επανεπωάζεται για μία ή δύο ώρες επιπλέον και η εξέταση να επαναλαμβάνεται προτού δοθεί αναφορά.

Από ανθρώπινες λοιμώξεις έχουν απομονωθεί στελέχη άλλων αρνητικών στην καταλάση gram-θετικών κόκκων, δηλ., *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* και *Vagococcus*. Επομένως, δεν είναι δυνατό να πραγματοποιηθεί η συμπερασματική ταυτοποίηση των εντερόκοκκων μόνο με βάση την αντίδραση χολής-εσκουλίνης NaCl 6,5%.¹⁰

XII ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Brain Heart Infusion

Πριν από τη διάθεσή τους, όλες οι παρτίδες του Brain Heart Infusion εξετάζονται ως προς τα χαρακτηριστικά απόδοσης. Με χρήση αποστειρωμένης πιπέτας, αντιπροσωπευτικά δείγματα της παρτίδας ενοφθαλμίζονται με 0,1 mL (για όγκους πλήρωσης ίσους με ή μικρότερους από 5 mL) ή 1,0 mL (για όγκους πλήρωσης μεγαλύτερους από 5 mL) καλλιεργίων *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) και *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615) σε **Trypticase** Soy Broth ή Thioglycollate Medium, Enriched που περιέχουν 1.000 μονάδες σχηματισμού αποικιών (CFU) ή λιγότερες. Τα σωληνάρια επωάζονται με ξεσφιγμένα καπάκια στους 35 ± 2 °C και παρατηρούνται μετά από 18 έως 24 ώρες και 42 έως 48 ώρες για ανάπτυξη. Όλες οι καλλιέργειες εμφανίζουν μέτρια έως έντονη ανάπτυξη εντός 48 ωρών.

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Πριν από τη διάθεσή τους, όλες οι παρτίδες του Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride εξετάζονται ως προς τα χαρακτηριστικά απόδοσης. Με χρήση βαθμονομημένου κρίκου 0,01 mL, αντιπροσωπευτικά δείγματα της παρτίδας εξετάζονται με καλλιέργειες του *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) και του *Streptococcus gallolyticus* (ATCC 9809) σε **Trypticase** Soy Broth αραιωμένες σε πυκνότητα 10⁻¹. Τα σωληνάρια επωάζονται στους 35 ± 2 °C και παρατηρούνται μετά από 18 έως 24 ώρες και 42 έως 48 ώρες για ανάπτυξη. Το *E. faecalis* εμφανίζει μέτρια έως έντονη ανάπτυξη ενώ το *S. gallolyticus* αναστέλλεται πλήρως.

Επιπλέον, αντιπροσωπευτικά δείγματα εξετάζονται χημικά με τιτλοδότηση νιτρικού αργύρου για περιεκτικότητα σε χλωριούχο νάτριο. Η υπολογιζόμενη επί τοις εκατό περιεκτικότητα του χλωριούχου νατρίου είναι 6,0 έως 7,0.

XIII ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

Αρ. κατ. Περιγραφή

221778	BD BBL Brain Heart Infusion, 0,5 mL, δοχείο των 100 σωληναρίων μεγέθους K
297769	BD BBL Brain Heart Infusion, 2 mL, δοχείο των 100 σωληναρίων μεγέθους K
221812	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, συσκευασία των 10 σωληναρίων μεγέθους K
221813	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, δοχείο των 100 σωληναρίων μεγέθους K
220837	BD BBL Brain Heart Infusion, 8 mL, δοχείο των 100 σωληναρίων μεγέθους K
221785	BD BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride, συσκευασία των 10 σωληναρίων μεγέθους K

XIV ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

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.

Τεχνική Εξυπηρέτηση και Υποστήριξη της BD Diagnostics: παρακαλούμε επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD ή τη διεύθυνση 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.