



BBL Brain Heart Infusion
BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride
L007440 • Rev. 12 • Septembre 2014



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

La Brain Heart Infusion (BHI) est un milieu liquide à usages multiples servant à la croissance d'un grand nombre d'espèces de bactéries et de champignons. La Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride sert à différencier les entérocoques des streptocoques du groupe D non entérocoques.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Préparer des dilutions en vue de les utiliser comme inoculum à partir de cultures de **Trypticase Soy Broth** âgées de 24 à 48 h.
 - b. Ensemencement des milieux
 - 1) Pour l'infusion BHI, ensemencer les tubes des échantillons à tester avec une dilution de chaque culture. La dilution doit contenir 1 000 UFC (unités formant colonies) ou moins. Les volumes de remplissage d'une capacité supérieure à 5 mL doivent être ensemencés avec 1,0 mL. Les volumes de remplissage d'une capacité inférieure ou égale à 5 mL doivent être ensemencés avec 0,1 mL.
 - 2) Pour une infusion BHI with 6.5% Sodium Chloride, ensemencer au moyen d'une anse calibrée (0,01 mL) les tubes d'échantillons à tester avec des cultures de **Trypticase Soy Broth** diluées au 1/10 et âgées de 18 à 24 h.
 - c. Incuber les cultures, avec les bouchons desserrés, en atmosphère aérobie, à une température de 35 ± 2 °C.
2. Au bout 24 et 48 heures, examiner les tubes afin d'évaluer la croissance. Examiner les tubes de BHI with 6.5% Sodium Chloride après 18 à 24 h afin d'évaluer le niveau de croissance et la sélectivité.
3. Résultats attendus
 - a. Brain Heart Infusion
Organismes de contrôle du CLSI (souches ATCC)
**Escherichia coli* Croissance (25922)
**Staphylococcus aureus* Croissance (25923)
Souches supplémentaires utilisées :
Pseudomonas aeruginosa Croissance ATCC 27853
Enterococcus faecalis Croissance ATCC 29212
Streptococcus pyogenes Croissance ATCC 19615
 - b. BHI with 6.5% Sodium Chloride
**Enterococcus faecalis* Croissance ATCC 29212
**Streptococcus gallolyticus* Pas de croissance ATCC 9809

*Souche recommandée pour le Contrôle de qualité réalisé par l'utilisateur.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des tubes représentatifs pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Incuber des tubes représentatifs non ensemencés entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C, et les examiner après 7 jours pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

La Brain Heart Infusion (BHI) (infusion cœur-cerveille) est un milieu liquide à usages multiples utilisé pour la culture des microorganismes exigeants ou non exigeants, y compris les bactéries aérobies et anaérobies, à partir de divers matériaux cliniques et non cliniques.

La BHI with 6.5% Sodium Chloride (BHI contenant 6,5 % de chlorure de sodium) permet de différencier les entérocoques des streptocoques du groupe D non entérocoques.

V RESUME ET EXPLICATION

Le bouillon BHI est utilisé pour la culture d'un grand nombre de microorganismes, notamment les bactéries, les levures et les moisissures.¹

La BHI with 6.5% Sodium Chloride permet de différencier les entérocoques (*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* et *E. avium*, par exemple) des espèces non entérocoques (*S. gallolyticus* et *S. equinus*) au moyen de l'épreuve de tolérance au sel à 6,5 %.²

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Le bouillon BHI est un milieu de culture nutritif tamponné contenant des infusions de tissus de cœur et de cerveau et des peptones qui apportent les protéines et autres éléments nutritifs essentiels à la croissance des microorganismes exigeants et non exigeants. Dans la formulation contenant 6,5 % de chlorure de sodium, le sel joue le rôle d'agent de différenciation et/ou de sélection en interférant sur la perméabilité des membranes et sur l'équilibre osmotique et électrocinétique des organismes intolérants au sel.¹

VII REACTIFS

Brain Heart Infusion

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Cœur-cerveille, infusion à partir de (matières solides)	6,0 g
Digestion peptique de tissu animal	6,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Dextrose	3,0 g
Digestion pancréatique de gélatine	14,5 g
Phosphate disodique	2,5 g

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

La Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride contient 60 g/L de chlorure de sodium en plus des ingrédients énumérés ci-dessus.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Il faut user de précautions lorsque l'on rend directement les résultats de la coloration Gram et d'autres colorations microbiologiques, obtenus sur des échantillons de tissus préparés avec ce milieu, du fait de la présence possible d'organismes non viables dans ce milieu.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »³⁻⁶ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les tubes préparés, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation

Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité, à une température comprise entre 2 et 25 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Maintenir à l'abri de la lumière. Les milieux en tube conservés conformément aux instructions jusqu'au moment de leur utilisation peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption indiquée et incubés pendant les durées recommandées. Laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante avant de l'ensemencer.

Détérioration du produit

Ne pas utiliser les tubes s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons adaptés à la mise en culture peuvent être manipulés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{7,8} Prélever les échantillons avant l'administration des agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

Brain Heart Infusion ou

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Matériaux requis mais non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test

Respecter les techniques d'asepsie.

Les tubes de milieux contenant des échantillons liquides doivent être ensemencés à l'aide d'une pipette stérile, avec une ou deux gouttes de l'échantillon. Les écouvillonnages peuvent être incorporés dans le bouillon après l'ensemencement des milieux en boîtes de Pétri.

Les milieux liquides pour l'incubation anaérobie doivent être réduits avant l'incubation : placer les tubes, bouchons desserrés, dans des conditions anaérobies pendant 18 à 24 h avant leur utilisation. Le système anaérobie **BD GasPak EZ** est une méthode efficace et simple pour obtenir des conditions anaérobies adaptées.

Ou alors, les milieux liquides peuvent être réduits juste avant leur utilisation : les faire bouillir, bouchons desserrés, dans un bain-marie*, puis les laisser refroidir jusqu'à la température ambiante, bouchons resserrés, avant l'ensemencement.

Ensemencer faiblement le bouillon à 6,5 % de NaCl avec une ou deux colonies de bactéries suspectes. Incuber en atmosphère anaérobie à 35 ± 2 °C pendant une nuit. Observer la croissance ; incuber les tests négatifs pendant 24 h supplémentaires.

***REMARQUE** : Il n'est pas recommandé d'utiliser un four à micro-ondes.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

X RESULTATS

La présence d'une certaine turbidité à l'intérieur des tubes (par rapport à un échantillon de contrôle non ensemencé) est un signe de croissance.

En cas de croissance, effectuer une coloration de Gram sur les cultures et repiquer sur des milieux appropriés, tels que gélose **Trypticase Soy Agar** additionnée de 5 % de sang de mouton (TSA II) et/ou géloses **Chocolate II Agar**, **EMB Agar** ou **MacConkey II Agar** en boîtes de Pétri. Si la présence d'organismes anaérobies est présumée, incuber les repiquages comme dans un système anaérobie **GasPak EZ**.

Les entérocoques se développent dans le bouillon de NaCl à 6,5 % sous 24 à 48 h. Les streptocoques du groupe D non entérocoques ne se développent pas dans ce milieu au-delà de 48 h d'incubation.²

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Pour procéder à l'identification, les organismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Pour plus d'informations, et pour connaître les procédures recommandées, consulter les publications citées en référence.^{7,9}

Les milieux de culture contiennent parfois des organismes morts provenant des éléments composant le milieu, qui peuvent apparaître sous la forme de trainées dans le milieu de culture. Les réactifs de coloration, l'huile d'immersion, les lames de verre et les échantillons utilisés pour l'ensemencement constituent d'autres sources d'organismes morts qui deviennent visibles après une coloration de Gram. S'il existe un doute concernant la coloration de Gram, la culture doit être réincubée pendant une heure ou deux et le test répété avant qu'un compte rendu ne soit donné.

Des souches d'autres cocci Gram positifs catalase négatifs ont été isolés des infections humaines. Il s'agit du *Lactococcus*, du *Leuconostoc*, du *Pediococcus* et du *Vagococcus*. En conséquence, l'identification présomptive d'entérocoques basée sur la réaction bile-esculine et sur la croissance dans un bouillon de NaCl à 6,5 % n'est pas réalisable.¹⁰

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Brain Heart Infusion

Tous les lots de Brain Heart Infusion sont soumis à des tests en usine permettant d'évaluer les caractéristiques de leurs performances. À l'aide d'une pipette stérile, des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés avec 0,1 mL (pour les volumes de remplissage inférieurs ou égaux à 5 mL) ou avec 1,0 mL (pour les volumes de remplissage supérieurs à 5 mL) de **Trypticase** Soy Broth ou de milieu au thioglycolate, de cultures enrichies contenant au maximum 1 000 UFC d'*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), d'*Escherichia coli* (ATCC 25922), de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et de *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615). Les tubes sont incubés, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C et examinés afin d'évaluer la croissance après 18 à 24 h et 42 à 48 h. Toutes les cultures présentent une croissance modérée à forte au bout de 48 h.

Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride

Tous les lots de Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride sont soumis à des tests en usine permettant d'évaluer les caractéristiques de leurs performances. Utiliser une anse calibrée (0,01 mL) pour tester les échantillons représentatifs du lot avec des cultures de **Trypticase** Soy Broth diluées au 1/10 d'*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) et de *Streptococcus gallolyticus* (ATCC 9809). Les tubes sont incubés à 35 ± 2 °C puis examinés après 18 à 24 h et 42 à 48 h afin d'évaluer la croissance. *E. faecalis* présente une croissance modérée à forte tandis que celle de *S. gallolyticus* est totalement inhibée.

En outre, des échantillons représentatifs sont testés chimiquement au moyen d'une titration au nitrate d'argent pour évaluer le taux de chlorure de sodium. La proportion théorique de chlorure de sodium est comprise entre 6,0 et 7,0.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221778	BD BBL Brain Heart Infusion, 0,5 mL, carton de 100 tubes de taille K
297769	BD BBL Brain Heart Infusion, 2 mL, carton de 100 tubes de taille K
221812	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, boîte de 10 tubes de taille K
221813	BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, carton de 100 tubes de taille K
220837	BD BBL Brain Heart Infusion, 8 mL, carton de 100 tubes de taille K
221785	BD BBL Brain Heart Infusion with 6.5% Sodium Chloride, boîte de 10 tubes de taille K

XIV REFERENCES

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.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site 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.