



# BBL Brain Heart Infusion

## BBL Brain Heart Infusion med 6,5 % natriumklorid



L007440 • Rev. 12 • September 2014

### PROCEDURER FÖR KVALITETSKONTROLL

#### I INTRODUKTION

Hjärt-hjärninfusion (Brain Heart Infusion, BHI) är ett medium i vätskeform för allmänt ändamål för tillväxt av ett stort antal bakterie- och svamparter. Hjärt-hjärninfusion med 6,5 % natriumklorid används för att differentiera enterokocker från streptokocker grupp D som ej är enterokocker.

#### II PRESTANDATESTFÖRFARANDE

- Ympa representativa prover med de odlingar som anges nedan.
  - Bered spädningar från 24- till 48-h **Trypticase** sojabuljongodlingar för användning som inokulat.
  - Inokulation av medier
    - Vid BHI, inokulera rör med prover med en spädning av varje odling. Spädningen får innehålla högst 1 000 CFU. Fyllnadsvolymer med över 5 mL ska inokuleras med 1,0 mL. Fyllnadsvolymer med högst 5 mL ska inokuleras med 0,1 mL.
    - Vid BHI med 6,5 % natriumklorid ska rören med proverna inokuleras med användning av  $10^{-1}$  spädningar av 18- till 24-h **Trypticase** sojabuljongodlingar med användning av en 0,01 mL kalibrerad ögla.
  - Inkubera rören med löst påsatta lock vid  $35 \pm 2$  °C i aerob miljö.
- Undersök rören med hjärt-hjärninfusion efter 24 och 48 h med avseende på tillväxt. Undersök rören med BHI med 6,5 % natriumklorid efter 18 – 24 h med avseende på tillväxt och selektivitet.
- Förväntade resultat

##### Hjärt-hjärninfusion

| CLSI-organismer                | ATCC  | Utbyte |
|--------------------------------|-------|--------|
| * <i>Escherichia coli</i>      | 25922 | Växt   |
| * <i>Staphylococcus aureus</i> | 25923 | Växt   |

##### Ytterligare organismer

|                               |       |      |
|-------------------------------|-------|------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 27853 | Växt |
| <i>Enterococcus faecalis</i>  | 29212 | Växt |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 19615 | Växt |

##### BHI med 6,5 % natriumklorid

| Organismer                          | ATCC  | Utbyte     |
|-------------------------------------|-------|------------|
| * <i>Enterococcus faecalis</i>      | 29212 | Växt       |
| * <i>Streptococcus gallolyticus</i> | 9809  | Ingen växt |

\*Rekommenderad organismstam för kvalitetskontroll utförd av användaren.

#### III YTTERLIGARE KVALITETSKONTROLL

- Undersök rören enligt beskrivningen i avsnittet "Produktförsämring".
- Undersök representativa rör visuellt för att säkerställa att inga existerande fysiska defekter kommer att interferera vid användning.
- Inkubera oinokulerade representativa rör vid 20 till 25 °C och 30 till 35 °C och undersök dem efter 7 dagar med avseende på mikrobiell kontamination.

### PRODUKTINFORMATION

#### IV AVSEDD ANVÄNDNING

Hjärt-hjärninfusion (BHI) är ett medium i vätskeform för allmänt ändamål som används vid odling av lättodlade och svårodade mikroorganismer, inklusive aeroba och anaeroba bakterier, från olika kliniska och icke-kliniska material. Buljongmedium som innehåller 6,5 % natriumklorid används för att differentiera mellan enterokocker och streptokocker grupp D som ej är enterokocker.

#### V SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

BHI-buljong används för odling av en lång rad olika mikroorganismer, inklusive bakterier, jäst och mögel.<sup>1</sup> BHI med 6,5 % natriumklorid används för att differentiera mellan enterokocker (t.ex. *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* och *E. avium*) och arter som ej är enterokocker (*S. gallolyticus* och *S. equinus*) med 6,5 % salttoleranstest.<sup>2</sup>

#### VI PRINCIPER FÖR METODEN

BHI-buljong är ett näringsrikt, buffrat odlingsmedium som innehåller infusioner med hjärt- och hjärnvävnad samt pepton som ger protein och andra näringsämnen som behövs för odling av krävande och icke krävande mikroorganismer. I formuleringen som innehåller 6,5 % natriumklorid fungerar saltet som differentiellt och/eller

selektivt medel genom att interferera med membranets permeabilitet och osmotiska och elektrokinetiska jämvikter i saltintoleranta organismer.<sup>1</sup>

## VII REAGENSER

### Hjärt-hjärninfusion (Brain Heart Infusion)

Ungefärlig sammansättning\* per liter renat vatten

|                                                 |        |
|-------------------------------------------------|--------|
| Brain Heart, infusion från (torrsubstans) ..... | 6,0 g  |
| Peptisk digestion av djurvävnad.....            | 6,0 g  |
| Natriumklorid .....                             | 5,0 g  |
| Dextros .....                                   | 3,0 g  |
| Pankreatisk spjälkning av gelatin.....          | 14,5 g |
| Dinatriumfosfat .....                           | 2,5 g  |

\*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

Hjärt-hjärninfusion med 6,5 % natriumklorid innehåller 60 g/L natriumklorid förutom ovannämnda ingredienser.

**Varningar och försiktighetsbeaktanden:** Avsedda för *in vitro*-diagnostik.

Försiktighet bör iakttas vid rapportering av resultat av direkt Gram-färgning och/eller annan direkt mikrobiologisk färgning på vävnadsprover som behandlats med detta medium på grund av den eventuella närvaron av icke-viåbla organismer i odlingsmediet.

Rör med lock som sitter åt hårt ska öppnas försiktigt så att inte skador inträffar på grund av att glaset går sönder.

Patogena mikroorganismer, inklusive hepatitvirus och humant immunbristvirus, kan förekomma i kliniska prover.

"Allmänna försiktighetsbeaktanden"<sup>3-6</sup> och institutionens riktlinjer bör följas vid hantering av alla föremål som kontaminerats med blod eller andra kroppsvätskor. Efter användning ska alla preparerade rör, provbehållare och övrigt kontaminerat material steriliseras i autoklav innan de kasseras.

**Förvaringsanvisningar:** Förvara rören mörkt vid 2 till 25 °C efter mottagandet. Undvik frysning och överhettning. Får ej öppnas förrän omedelbart före användning. Aktas för ljus. Medier i rör som förvarats enligt anvisningarna till precis före användning kan inokuleras fram till utgångsdatum och inkuberas under de rekommenderade inkubationstiderna. Låt mediet värmas till rumstemperatur före inokulation.

**Produktnedbrytning:** Rören får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning eller annan försämring.

## VIII PROVTAGNING OCH -FÖRBEREDELSE

Prover som är lämpliga för odling kan hanteras med olika metoder. För detaljerad information hänvisas till lämplig litteratur.<sup>7,8</sup> Prover skall tas före administrering av antimikrobiella medel. Åtgärder måste vidtas för snabb leverans till laboratoriet.

## IX FÖRFARANDE

**Tillhandahållet material:** Hjärt-hjärninfusion eller Hjärt-hjärninfusion med 6,5 % natriumklorid

**Material som krävs men ej medföljer:** Extra odlingsmedier, reagenser, organismer för kvalitetskontroll och laboratorieutrustning efter behov.

**Testförfarande:** Använd aseptisk teknik.

Vid flytande prover skall medier i rör inokuleras med en eller två droppar av provet med användning av steril pipett. Provtagningspinnar kan föras in i buljongen efter inokulering av plattmedier.

Flytande medier för anaerob inkubation skall reduceras före inkubering genom placering av rör, med löst påsatta lock, under anaeroba förhållanden i 18 – 24 h före användning. Ett effektivt och lätt sätt att erhålla lämpliga anaeroba förhållanden är genom att använda **BD GasPak EZ** anaerobt system.

Alternativt kan flytande medier reduceras omedelbart före användning genom att värma dem i vattenbad med kokande vatten\* med löst påsatta lock och låta svalna till rumstemperatur före inokulation.

Inokulera 6,5 % koksaltlösningbuljongen lätt med en eller två kolonier misstänkta bakterier. Inkubera aerobt vid 35 ± 2 °C över natten. Undersök med avseende på tillväxt; återinkubera negativa prover i ytterligare 24 h.

\***OBS!** Användning av mikrovågsugn rekommenderas ej.

**Kvalitetskontroll utförd av användaren:** Se "Procedurer för kvalitetskontroll".

Kvalitetskontroll måste utföras i enlighet med gällande bestämmelser eller ackrediteringskrav samt laboratoriets etablerade procedurer för kvalitetskontroll. Det rekommenderas att användaren konsulterar tillämpliga CLSI- (tidigare NCCLS) riktlinjer och CLIA-föreskrifter för lämpliga kvalitetskontrollförfaranden.

## X RESULTAT

Tillväxt i rören indikeras av närvaro av grumlighet jämfört med inokulerad kontroll.

Om tillväxt förekommer skall odlingarna undersökas med Gram-färgning och fortsatt odling på lämpligt medium, t.ex.

**Trypticase Soy Agar** med 5 % fårblod (TSA II) och/eller **Chocolate II Agar**-platta, **EMB Agar** eller **MacConkey II Agar**-plattor.

Om anaerob misstänks skall fortsatt odling inkuberas anaerobiskt på samma sätt som i ett **GasPak EZ** anaerobt system.

Enterokocker kommer att växa i 6,5 % NaCl-buljongen inom 24 – 48 h. Streptokocker grupp D som ej är enterokocker kan inte växa i mediet efter 48 h of inkubation.<sup>2</sup>

## XI METODENS BEGRÄNSNINGAR

För identifiering måste organismer vara i renkultur. Morfologiska, biokemiska och/eller serologiska tester bör utföras för fullständig identifiering. Se lämplig litteratur för noggrann information och rekommenderade förfaranden.<sup>7-9</sup>

Odlingsmedium innehåller ibland döda organismer framtagna från ingredienser i mediet, vilka kan vara synliga i utstryk från odlingsmedium. Andra källor för döda organismer som är synliga vid Gram-färgning inkluderar färgreagenser, immersionsoljor, objektglas eller ympade prover. Om Gram-färgningens validitet är osäker skall odlingen återinkuberas i en eller två timmar och provet upprepas innan rapporten lämnas.

Stammar av andra katalasnegativa grampositiva kocker; dvs. *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* och *Vagococcus* har isolerats från humana infektioner. Därför kan presumptiv identifiering av enterokocker baserad på endast gallesculinreaktion och växt i 6,5 % NaCl-buljong inte göras.<sup>10</sup>

## XII KLINISKA PRESTANDA

### Hjärt-hjärninfusion (Brain Heart Infusion)

Alla partier Hjärt-hjärninfusion prestandatestas innan de släpps. Representativa prover i partiet inokuleras med steril pipett med 0,1 mL (för fyllnadsvolymer på 5 mL eller mindre) eller 1,0 mL (för fyllnadsvolymer som är större än 5 mL) med **Trypticase** sojabuljong eller tioglykolatmedium, berikade odlingar som innehåller 1 000 kolonibildande enheter (CFU) eller mindre med *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) samt *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615). Rören inkuberas med löst påsatta lock vid  $35 \pm 2$  °C och avläses efter 18 – 24 h och 42 – 48 h för tillväxt. Alla kulturer uppvisar måttlig till kraftig växt inom 48 h.

### Hjärt-hjärninfusion (Brain Heart Infusion) med 6,5 % natriumklorid

Alla partier Hjärt-hjärninfusion med 6,5 % natriumklorid prestandatestas innan de släpps. Representativa prover i partiet testas med en 0,01 mL kalibrerad ögla med **Trypticase** sojabuljong-ordlingar spädda  $10^{-1}$  av *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) och *Streptococcus gallolyticus* (ATCC 9809). Rören inkuberas vid  $35 \pm 2$  °C och avläses efter 18 – 24 h och 42 – 48 h för tillväxt. *E. faecalis* uppvisar måttlig till kraftig växt medan *S. gallolyticus* helt inhiberas.

Dessutom testas representativa prover kemiskt med silvernitrattitrering för natriumkloridinnehåll. Den uträknade procentandelen natriumklorid är 6,0 till 7,0.

## XIII TILLGÄNGLIGHET

| Kat. nr. | Beskrivning                                                                             |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 221778   | BD BBL Brain Heart Infusion, 0,5 mL, kartong med 100 rör i storlek K                    |
| 297769   | BD BBL Brain Heart Infusion, 2 mL, kartong med 100 rör i storlek K                      |
| 221812   | BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, förpackning med 10 rör i storlek K                   |
| 221813   | BD BBL Brain Heart Infusion, 5 mL, kartong med 100 rör i storlek K                      |
| 220837   | BD BBL Brain Heart Infusion, 8 mL, kartong med 100 rör i storlek K                      |
| 221785   | BD BBL Brain Heart Infusion med 6,5 % natriumklorid, förpackning med 10 rör i storlek K |

## XIV REFERENSER

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 teknisk service: Kontakta närmaste BD-representant eller besök [www.bd.com/ds](http://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.