

ISTRUZIONI PER L'USO

BRAIN HEART INFUSION BROTH

Terreno in polvere

 Brain Heart Infusion Broth
 da sinistra: terreno non inoculato, crescita di *S. aureus*
1 - DESTINAZIONE D'USO

 Diagnostico *in vitro*. Terreno d'uso generale, per la coltivazione ed il mantenimento di microrganismi esigenti e non da campioni clinici e non clinici.

2 - COMPOSIZIONE
(FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA) *

Infuso di cervello disidratato	12,5 g
Infuso di cuore disidratato	5,0 g
Digerito enzimatico di tessuti animali	10,0 g
Glucosio	2,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Sodio fosfato bibasico	2,5 g

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

 Brain Heart Infusion (BHI) Broth è un terreno d'uso generale, basato sulla formulazione di Edward Rosenow¹ del 1919, modificata successivamente da Russell Haden² nel 1923. Il brodo BHI moderno utilizza in genere infusi in polvere di cuore e cervello, piuttosto che tessuto cerebrale e cardiaco e include il fosfato disodico come tampone, piuttosto che il carbonato di calcio utilizzato da Rosenow e Haden. BHI Broth è indicato per la coltivazione di una larga varietà di microrganismi, compresi i patogeni a crescita fastidiosa, aerobi ed anaerobi, lieviti e muffe³, impiegando le temperature ed i tempi di incubazione adatti.

 Il brodo BHI viene utilizzato per la preparazione della brodocoltura stafilococcica per eseguire il test della coagulasi.⁴ BHI Broth può essere utilizzato per avviare il processo di crescita batterica per il test dell'ureasi di *H. pylori*.^{5,6}

Gli infusi di cuore e cervello ed il peptone sono fonti di azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita microbica; il glucosio costituisce una fonte di energia, il sodio cloruro mantiene l'equilibrio osmotico, il sodio fosfato bibasico è incluso come sistema tampone.

4 – METODO DI PREPARAZIONE

Sospendere 37 g in 1000 mL di acqua purificata sterile. Scaldare per sciogliere completamente, distribuire sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, beige
Aspetto del terreno in soluzione ed in piastra o provetta	limpido, giallo
pH (20-25°C)	7,4 ± 0,2

6 - MATERIALE FORNITO – TIPO DI CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Brain Heart Infusion Broth	Terreno in polvere	4012302	500 g (13.5)
		4012304	5 kg (135 L)

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Anse e tamponi sterili da microbiologia, autoclave, termostato e strumentazione di laboratorio, beute, provette e flaconi autoclavabili, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

8 - CAMPIONI

 Brain Heart Infusion Broth può essere utilizzato per la subcoltura di colonie coltivate su terreni d'isolamento primario. Può anche essere inoculato con una varietà di campioni clinici e non clinici seguendo le procedure descritte in letteratura.⁶ Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici; quando possibile, raccogliere il campione prima dell'inizio della terapia antimicrobica

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Con un ago o un'ansa batteriologica inoculare il brodo in provetta o in flacone con una colonia coltivata su altro terreno d'isolamento o con una o due gocce del campione, se liquido, utilizzando una pipetta sterile. I campioni raccolti con tampone possono essere inseriti nel brodo dopo aver seminato su piastra.

L'utilizzatore è responsabile della scelta del tempo di incubazione, della temperatura e dell'atmosfera appropriata, a seconda del campione in esame, delle esigenze nutrizionali degli organismi da isolare e dei protocolli operativi locali applicabili.





10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, la presenza di microrganismi è indicata da un grado variabile di torbidità, da granelli o flocculazione nel brodo di coltura. Il controllo non inoculato rimane limpido e senza torbidità dopo l'incubazione. Le caratteristiche delle crescite sono strettamente correlate al tipo o ai tipi di microrganismi coltivati

11 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.⁷

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE/ T°/ t / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita
<i>E.coli</i> ATCC 25922	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di terreno in polvere Brain Heart Infusion Broth vengono testati per la produttività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

La produttività del terreno è valutata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di diluizioni appropriate di ceppi target nelle provette, incubando a 35-37°C o a 20-25°C per 18-24 o 24-72 ore e registrando la diluizione più alta ove si osserva crescita, nel Lotto di Riferimento (C_{LR}) e nel lotto in esame (C_{LE}). La produttività è valutata con i seguenti ceppi: *S.aureus* ATCC 25923, *S.pyogenes* ATCC19615, *S.pneumoniae* ATCC 6301, *E.faecalis* ATCC 19433, *N.gonorrhoeae* ATCC 19424, *C.albicans* ATCC 18804, *A.brasilensis* ATCC 9642. L'indice di produttività (C_{LR}-C_{LE}) per ciascun ceppo è giudicato conforme quando è ≤ 1.

13 - LIMITI DEL METODO

- Poiché le esigenze nutrizionali dei microrganismi possono essere variabili è possibile che alcuni ceppi microbici non crescano o crescano stentatamente sul terreno.
- È necessario il trapianto su idonei terreni in piastra per la purificazione delle colture e per eseguire i test di identificazione.
- Le colture devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- Il terreno di coltura qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni di sicurezza specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura in provetta o in flacone.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Comunicare a Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) ed alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione all'uso del diagnostico *in vitro*
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

15 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi). L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione del terreno e della validazione del periodo di validità del prodotto finito, in funzione della tipologia (provette/flaconi) e del metodo di conservazione applicato (temperatura e confezionamento).



16 - BIBLIOGRAFIA

- Rosenow EC. Studies on elective localization. J Dent Research 1919; 1:205-49.
- Hayden RL. Elective localization in the eye of bacteria from infected teeth. Arch Int Med 1923; 32:828-49.
- Atlas R, Snyder J. Reagents, Stains and Media: Bacteriology. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019
- ISO 6888-1:1999 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species). Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium.
- Public Health England- UK Standards for microbiology investigations (UK SMI) B55. Investigation of infectious causes of dyspepsia. Issue no: 7; 03.10.2019
- McElvania E, Singh K. Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
- CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	o REF	LOT Numero di lotto	IVD In vitro Diagnostic Medical Device	 Fabbricante	 Utilizzare entro
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 8	Aggiornamento del contenuto e del layout	09/2020
Revisione 9	Aggiornamento punto 2 (composizione) con una più dettagliata descrizione degli ingredienti	12/2020
Revisione 10	Modifiche a "precauzioni ed avvertenze", "conservazione e validità"	01/2022
Revisione 11	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

