

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Lim Broth (Lim-Bouillon) dient zur selektiven Anreicherung für Streptokokken der Gruppe B (*Streptococcus agalactiae*).

II TESTDURCHFÜHRUNG

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a) Die Röhrchen unter Zuhilfenahme steriler 1,0-mL-Pipetten mit 1,0 mL von Verdünnungen 18 bis 24 h alter **Trypticase** Soy Broth-Kulturen inokulieren. Die verwendete Verdünnung sollte max. 1000 KBE/mL für *S. agalactiae* und $1,0 \times 10^5$ KBE/mL für *E. coli* enthalten.
 - b) Die Röhrchen mit gelockerten Verschlüssen in einer aeroben Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubieren.
2. Die Röhrchen bis zu 3 Tage lang auf Wachstum überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

Organismen	ATCC	Isolierung
* <i>Streptococcus agalactiae</i>	12386	Wachstum (mäßig bis stark)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Hemmung (teilweise oder vollständig)

* Empfohlener Organismusstamm für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

HINWEIS: Dieses Medium ist gemäß CLSI M22-A3 von Qualitätskontrolltests durch den Anwender ausgenommen.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Röhrchen untersuchen, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben.
2. Repräsentative Röhrchen sichtprüfen, um sicherzustellen, dass ihre Nutzung nicht durch bereits vorhandene Beschädigungen beeinträchtigt werden kann.
3. Den pH-Wert potentiometrisch bei Raumtemperatur überprüfen, um festzustellen, ob die Spezifikation von $7,8 \pm 0,2$ eingehalten wird.
4. Nicht inokulierte repräsentative Röhrchen bei 20 – 25 °C und bei 30 – 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen im Hinblick auf Kontamination durch Mikroorganismen untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Lim Broth dient zur selektiven Anreicherung für Streptokokken der Gruppe B (*Streptococcus agalactiae*), besonders bei Genitalproben.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Seit ihrem ersten Auftreten in den 70er Jahren haben sich Neugeboreneninfektionen durch Streptokokken der Gruppe B zur Hauptursache für Infektionserkrankungen und Sterblichkeit von Neugeborenen entwickelt. Vor 1994 kam es bei Neugeborenen in den Vereinigten Staaten jährlich zu schätzungsweise 7600 Fällen von invasiven b-Streptokokkeninfektionen, primär Sepsis und Meningitis, wobei es sich bei ca. 80 % dieser Fälle um frühe Formen der Erkrankung handelte, die innerhalb der ersten Lebenswoche auftraten.¹ Die Erkrankung wird auf vertikaler Ebene von einer Mutter übertragen, deren Anorektum oder Genitaltrakt zum Zeitpunkt der Geburt mit Streptokokken der Gruppe B besiedelt ist. Lim und seine Mitarbeiter kombinierten den Einsatz eines angereicherten selektiven Bouillonmediums und eines Objektträger-Koagglutinationstests, um das rasche Screening derartiger Entbindungsstationspatienten zu ermöglichen.²⁻⁵

Der Richtlinienentwurf der US-amerikanischen Gesundheitsbehörde CDC (Centers for Disease Control and Prevention) sieht ein Screening und die Anwendung einer Chemoprophylaxe während der Geburt zur Prävention von Neugeboreneninfektionen mit Streptokokken der Gruppe B vor.⁶ Todd Hewitt-Bouillon mit Colistin und Nalidixinsäure wird verwendet, um die Wahrscheinlichkeit einer Isolierung von Streptokokken der Gruppe B auf Schafblutagarplatten zu maximieren.¹ Lim Broth wird durch Zugabe der empfohlenen Konzentrationen an Colistin und Nalidixinsäure sowie von Hefeextrakt zur Förderung des Wachstums von Streptokokken der Gruppe B aus Todd Hewitt-Bouillon gewonnen.²

Auch außerhalb des Geburtszusammenhangs wurden Streptokokken der Gruppe B in Sepsis-Fällen bei Männern und Frauen sowie bei Gelenkinfektionen, Osteomyelitis, Infektionen der Harnröhre und Wundinfektionen gefunden. Sie werden mit Endokarditis, Lungenentzündung sowie Haut- und Weichgewebeanfektionen bei geschwächten Patienten in Zusammenhang gebracht.⁷

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Todd Hewitt Broth-Base ist ein Mehrzweckmedium, das primär zur Kultivierung von beta-hämolytischen Streptokokken verwendet wird, besonders für serologische Studien.⁸

Die Peptone, Dextrose und Salze liefern eine ausgezeichnete Nährstoffbasis für das Wachstum von Streptokokken. Der zugesetzte Hefeextrakt ist eine reichhaltige Quelle an Vitaminen des B-Komplexes. Dextrose regt die Bildung von Hämolyisin an. Dinatriumphosphat und Natriumcarbonat liefern die Pufferstoffe zur Neutralisierung der Säure, die bei der Fermentierung der Kohlenhydrate gebildet wird, und schützen somit das Hämolyisin vor der Inaktivierung durch die Säure. Nalidixinsäure und Colistin unterdrücken das Wachstum gramnegativer Bakterien.

VII REAGENZIE

Lim Broth

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser

Herzinfusion (von Frischgewebe)	3,1	g
Peptone.....	20,0	g
Dextrose.....	2,0	g
Natriumchlorid.....	2,0	g
Dinatriumphosphat.....	0,4	g
Natriumcarbonat	2,5	g
Hefeextrakt.....	10,0	g
Colistin	0,01	g
Nalidixinsäure	0,015	g

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen: *In-vitro*-Diagnostikum.

Röhrchen mit fest sitzenden Verschlusskappen sind vorsichtig zu öffnen, um Verletzungen auf Grund von Glasbruch zu vermeiden.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“⁹⁻¹² sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Präparierte Röhrchen, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Die Röhrchen nach Erhalt bei 2 – 8 °C im Dunkeln lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. Gemäß der Kennzeichnung in Röhrchen aufbewahrte Medien können bis zum Verfallsdatum inokuliert und für die empfohlene Inkubationsdauer inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts: Röhrchen bei Anzeichen von Kontamination durch Mikroorganismen, Verfärbung, Eintrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Nähere Informationen entnehmen Sie bitte der entsprechenden Literatur.^{7,13} Die Probenentnahme sollte vor der Anwendung von Antibiotika erfolgen. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Lim Broth

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren: Aseptisch vorgehen.

Die Röhrchen inokulieren und mit locker aufgesetzten Kappen in einer aeroben Atmosphäre mit oder ohne Kohlendioxid-Zusatz bei 35 ± 2 °C inkubieren. Falls gewünscht nach 5 h der Inkubation einen Objektträger-Koagglutinationstest auf Streptokokken der Gruppe B durchführen.⁴

Wenn nach 18 bis 24 h eine Trübung zu beobachten ist, von der Bouillonkultur eine Subkultur auf einer Schafblut-Agarplatte anlegen; ansonsten vor dem Entsorgen weitere 24 h lang inkubieren.¹

Qualitätssicherung durch den Anwender: Siehe „Maßnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

Eine Einzelelektrode, deren Durchmesser klein genug für die Röhrchen ist, sollte verwendet werden, um den pH-Wert von Medien in Röhrchen potentiometrisch zu ermitteln. Die Elektrodenspitze sollte unter der Oberfläche von Bouillonmedien platziert werden.

X ERGEBNISSE

Das Wachstum im Bouillonmedium wird durch den Trübungsgrad im Vergleich zu einer nicht inokulierten Kontrolle angezeigt.

Eine Subkultur auf **Trypticase** Soy Agar mit 5 % Schafblut (TSA II) anlegen und 18 bis 24 h lang oder, sofern erforderlich, bis zu 48 h lang inkubieren. Organismen, von denen vermutet wird, sie seien Streptokokken der Gruppe B (beta- oder nichthämolytische, grampositive Kokken und katalasenegative) identifizieren. Eine spezifische Identifizierung kann beispielsweise mit Streptokokken-Gruppierungsseren, dem CAMP-Test oder anderen Verfahren durchgeführt werden.

Jones et al. berichteten den Nachweis von Streptokokken der Gruppe B mittels Objektträger-Koagglutination nach 5 h der Inkubation, wenn die Organismenkonzentration in der Kultur mindestens 10⁷ pro mL betrug.⁴

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zur Identifizierung müssen die Organismen in Reinkultur vorliegen. Für die endgültige Identifizierung sollten morphologische, biochemische und/oder serologische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{7,13,14}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Nguyen et al. verwendeten Lim Broth in Verbindung mit **Trypticase** Soy Agar mit 5 % Schaffblut (TSA) als „Goldstandard“ für den Nachweis von Streptokokken der Gruppe B im unteren Genitalbereich von Schwangeren. Von 524 Frauen wiesen 90 positive Kulturen in entweder Lim Broth oder TSA auf. Die Empfindlichkeit, Spezifität, positive Vorhersagekraft und negative Vorhersagekraft von Lim Broth betragen 97 % (87/90), 100 % (434/434), 100 % (87/87) bzw. 97 % (434/437).¹⁵

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
292209	BD BBL Lim Broth, 5 mL, Packung zu 10 Röhrcchen der Größe K
296266	BD BBL Lim Broth, 5 mL, Karton zu 100 Röhrcchen der Größe K

XIV REFERENCES

1. Federal Register. 1994. Prevention of group B streptococcal disease: a public health perspective. Fed. Regist. 59:64764-64773.
2. Jones, D.E., E.M. Friedl, K.S. Kanarek, J.K. Williams, and D.V. Lim. 1983. Rapid identification of pregnant women heavily colonized with group B streptococci. J. Clin. Microbiol. 18:558-560.
3. Lim, D.V., K.S. Kanarek, and M.E. Peterson. 1982. Magnitude of colonization and sepsis by group B streptococci in newborn infants. Curr. Microbiol. 7:99-101.
4. Jones, D.E., K.S. Kanarek, and D.V. Lim. 1984. Group B streptococcal colonization patterns in mothers and their infants. J. Clin. Microbiol. 20:438-440.
5. Jones, D.E., K.S. Kanarek, J.L. Angel, and D.V. Lim. 1983. Elimination of multiple reactions of the Phadebact *Streptococcus* coagulatin test. J. Clin. Microbiol. 18:526-528.
6. Centers for Disease Control and Prevention. 2002. Morbid. Mort. Weekly Rep.51 (No. RR-11):1.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. Todd, E.W., and L.F. Hewitt. 1932. A new culture medium for the production of antigenic streptococcal haemolysin. J. Pathol. Bacteriol. 35:973-974.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
10. 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.
11. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
12. 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.
13. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. 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.
15. Nguyen, T.M. et al. 1998. Detection of group B *Streptococcus*: comparison of an optical immunoassay with direct plating and broth-enhanced culture methods. J. Matern. Fetal. Med. Jul-Aug; 7(4):172-176.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder 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 and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD.