

BBL Lim Broth

L007461 • Rev. 05 • Janeiro 2011

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DA QUALIDADE

I INTRODUÇÃO

Lim Broth (Meio Líquido de Lim) é utilizado para o enriquecimento selectivo de estreptococos do grupo B (*Streptococcus agalactiae*).

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Utilizando pipetas de 1,0 mL estéreis, inocule os tubos com 1,0 mL de diluições de culturas em **Trypticase Soy Broth** com 18 a 24 h. A diluição utilizada deve conter uma quantidade inferior ou igual a 1000 UFC/mL para *S. agalactiae* e de $1,0 \times 10^5$ UFC/mL para *E. coli*.
 - b. Incube os tubos com as tampas desapertadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, numa atmosfera aeróbia.
2. Examine os tubos até um período máximo de 3 dias, verificando se há crescimento.
3. Resultados Esperados
 - **Streptococcus agalactiae*..... Crescimento (moderado a intenso)
ATCC 12386
 - **Escherichia coli* Inibição (parcial a completa)
ATCC 25922

*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

NOTA: Este meio está isento de testes de controlo da qualidade realizados pelo utilizador, em conformidade com CLSI M22-A3.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os tubos como descrito em "Deterioração do Produto".
2. Examine visualmente os tubos representativos para se certificar de que quaisquer defeitos físicos existentes não irão interferir com a utilização.
3. Determine o pH, através de potenciometria, à temperatura ambiente, para cumprimento da especificação de pH de $7,8 \pm 0,2$.
4. Incube os tubos representativos não inoculados a uma temperatura entre $20 - 25^\circ\text{C}$ e $30 - 35^\circ\text{C}$ e examine após 7 dias para verificar se apresentam contaminação microbiana.

INFORMAÇÃO SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Lim Broth (Meio Líquido de Lim) é utilizado para o enriquecimento selectivo de estreptococos do grupo B (*Streptococcus agalactiae*), especialmente a partir de amostras genitais.

V SUMÁRIO E EXPLICAÇÃO

Desde o seu aparecimento nos anos setenta, a doença neonatal por estreptococos do grupo B tornou-se na principal causa infecciosa de doença e morte no recém-nascido. Antes de 1994, calculava-se que ocorriam anualmente 7.600 episódios de doença por estreptococos do grupo B invasivos, principalmente sépsis e meningite, em recém-nascidos nos Estados Unidos, com aproximadamente 80% destes episódios representando doença de instalação precoce ocorrendo na primeira semana de vida.¹ A doença é transmitida ao recém-nascido por transmissão vertical de uma mãe portadora de estreptococos do grupo B no ânus-recto ou área genital. Lim e colaboradores combinaram a utilização de um meio líquido enriquecido e selectivo com o teste de co-aglutinação em lâmina para procederem ao rápido despiste deste tipo de doentes maternos.²⁻⁵

O Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dos EUA propôs directivas para rastreio e utilização da quimioprofilaxia intra-parto visando a prevenção de doença neonatal por

estreptococos do grupo B.⁶ A utilização Todd Hewitt Broth with colistin and nalidixic acid (Meio Líquido de Todd Hewitt com Colistina e Ácido Nalidíxico) está recomendada para maximizar a probabilidade de isolamento de estreptococos do grupo B após aplicação em placas de agar de sangue de ovelha.¹ Lim Broth é preparado a partir de Todd Hewitt Broth mediante adição de colistina e ácido nalidíxico, nas concentrações recomendadas, mais extracto de levedura para uma melhor proliferação de estreptococos do grupo B.²

Também foram identificados estreptococos do grupo B em casos de sépsis em mulheres não parturientes e em homens, assim como em casos de infecção articular, osteomielite, infecção urinária e infecção de feridas. Estão associados a endocardite, pneumonia e a infecções da pele e dos tecidos moles em doentes susceptíveis.⁷

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

A base do Todd Hewitt Broth é um meio de utilização geral utilizado principalmente para cultura de estreptococos beta-hemolíticos, especialmente para estudos serológicos.⁸

As peptonas, dextrose e sais proporcionam uma base nutricional excelente para a proliferação de estreptococos. O extracto de leveduras adicionado é uma fonte rica em vitaminas do complexo B. A dextrose estimula a produção de hemolisina. O fosfato dissódico e o carbonato de sódio funcionam como tampões para contrariar a acidez produzida durante a fermentação do hidrato de carbono, protegendo assim a hemolisina da inactivação pela acidez. O ácido nalidíxico e a colistina suprimem a proliferação de bactérias gram negativas.

VII REAGENTES

Lim Broth

Fórmula Aproximada* Por Litro de Água Purificada

Infusão de coração de (Sólidos)	3,1	g
Peptona	20,0	g
Dextrose	2,0	g
Cloreto de Sódio.....	2,0	g
Fosfato dissódico	0,4	g
Carbonato de sódio	2,5	g
Extracto de levedura.....	10,0	g
Colistina.....	0,01	g
Ácido Nalidíxico.....	0,015	g

*Ajustado e/ou suplementado conforme necessário para cumprir os critérios de desempenho.

Advertências e precauções

Para uso em Diagnóstico *in-vitro*

Os tubos que têm as tampas fechadas devem ser abertos com cuidado para evitar lesões provocadas pela quebra do vidro.

Nas amostras podem existir microorganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"⁹⁻¹² e as linhas de orientação da instituição. Após a utilização e antes de serem eliminados, esterilize em autoclave os tubos preparados, recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

Instruções de Armazenamento

Após a recepção, armazenar os tubos em local escuro entre 2 e 8°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. Os meios que se encontram dentro de tubos que sejam armazenados conforme indicado no rótulo, até pouco antes de serem utilizados, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante o período de incubação recomendado. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto

Não utilizar os tubos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura ou outros sinais de deterioração.

VIII RECOLHA E MANUSEAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser preparadas utilizando várias técnicas. Para obter informações pormenorizadas, consulte os textos apropriados.^{7,13} As amostras devem ser obtidas antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material Fornecido

Lim Broth

Material Necessário Mas Não Fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento de Teste

Utilize técnicas assépticas.

Inocule os tubos e incube com as tampas desapertadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ numa atmosfera aeróbica com ou sem adição de dióxido de carbono. Se desejar, execute um teste de co-aglutinação em lâmina para estreptococos do grupo B ao fim de 5 h de incubação.⁴

Caso observe turvação decorridas 18 a 24 h, subculture a partir da cultura em meio líquido para uma placa de agar de sangue de ovelha; caso contrário, incube durante mais 24 h antes de eliminar.¹

Controlo de Qualidade do Utilizador:

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação europeus e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. O utilizador deve consultar as orientações CLSI e os regulamentos CLIA relevantes sobre as práticas de Controlo da Qualidade adequadas.

Deverá ser utilizado um único eléctrodo de tamanho suficientemente pequeno que caiba nos tubos para determinar o pH, através de potenciometria, dos meios em tubo. A ponta do eléctrodo deverá ser colocada abaixo da superfície do meio líquido.

X RESULTADOS

O crescimento em meio líquido é indicado pela presença de turvação comparada com um controlo não inoculado.

Subculture numa placa de **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood** (Agar de Soja Trypticase com 5% de Sangue de Ovelha) (TSA II) e incube durante 18 a 24 h, ou até 48 h se for necessário. Identifique os microrganismos sugestivos de estreptococos do grupo B (cocos beta hemolíticos ou não hemolíticos, gram positivos e catalase negativos). Pode ser efectuada uma identificação específica; por exemplo, utilizando soros de grupagem estreptocócica, o teste CAMP ou outros procedimentos.

Jones e col. Participaram a detecção de estreptococos do grupo B por co-aglutinação em lâmina após 5 h de incubação quando a concentração dos microrganismos na cultura era de 10^7 por mL ou superior.⁴

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Para serem identificados, os organismos têm que estar numa cultura pura. Devem realizar-se testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos para uma identificação final. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.^{7,13,14}

XII CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Nguyen e col. utilizaram Lim Broth em conjunto com **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood** (TSA) como o 'padrão de referência' para a detecção de estreptococos do grupo B a partir do aparelho genital inferior em mulheres grávidas. Em 524 mulheres, 90 apresentaram culturas positivas com Lim Broth ou TSA. A sensibilidade, especificidade,

valor preditivo positivo e valor preditivo negativo de Lim Broth foram de 97% (87/90), 100% (434/434), 100% (87/87), e 97% (434/437), respectivamente.¹⁵

XIII DISPONIBILIDADE

No. de cat.	Descrição
292209	BBL Lim Broth, 5 mL, emb. com 10 tubos K
296266	BBL Lim Broth, 5 mL, caixa com 100 tubos K

XIV BIBLIOGRAFIA

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* coagglutination 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.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds



Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, BBL and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2011 BD