

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Todd-Hewitt-Bouillon mit Gentamicin and Nalidixinsäure wird für die selektive Anreicherung von Streptokokken der Gruppe B (*Streptococcus agalactiae*) verwendet.

II LEISTUNGSTESTVERFAHREN

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a) Die Röhrchen mit sterilen 1,0-mL-Pipetten und 1,0 mL Verdünnungen von 18 bis 24 h alten **Trypticase**-Soja-Bouillonkulturen 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) Röhrchen mit gelösten Verschlusskappen bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren.
2. Röhrchen bis zu 3 Tage lang auf Wachstum überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse
 - **Streptococcus agalactiae*..... Wachstum
 - ATCC 12386
 - **Escherichia coli*..... Kein Wachstum
 - ATCC 25922

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus zur Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Röhrchen wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben begutachten.
2. Röhrchen stichprobenweise visuell auf Beschädigungen und Unregelmäßigkeiten überprüfen, um sicherzustellen, dass diese die spätere Nutzung nicht beeinträchtigen können.
3. Den pH-Wert mit dem Potentiometer bei Raumtemperatur darauf überprüfen, ob ein Bereich von $7,8 \pm 0,3$ eingehalten wird
4. Nicht inokulierte Röhrchen stichprobenweise bei 20 – 25 °C und bei 30 – 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf Kontamination durch Mikroorganismen überprüfen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Todd-Hewitt-Bouillon mit Gentamicin and Nalidixinsäure wird zur selektiven Anreicherung von Streptokokken der Gruppe B (*Streptococcus agalactiae*), besonders von Genitalproben, verwendet.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Seit ihrem ersten Auftreten in den 70er Jahren haben sich die B-Streptokokkeninfektionen bei Neugeborenen zur Hauptursache für Krankheiten und das Sterben von Neugeborenen entwickelt. Vor 1994 kam es bei Neugeborenen in den Vereinigten Staaten jedes Jahr zu geschätzten 7600 Fällen einer invasiven B-Streptokokkeninfektion, primär Sepsis und Meningitis, wobei es sich bei ca. 80 % dieser Fälle um Früherkrankungen innerhalb der ersten Lebenswoche handelte.¹ Die Krankheit wird auf vertikaler Ebene von einer Mutter übertragen, bei der sich die Streptokokken der Gruppe B im Anorektum oder im Genitalbereich ansiedeln.

Der Richtlinienentwurf der CDC (Centers for Disease Control and Prevention) sieht ein Screening und die Anwendung einer Chemoprophylaxe unter der Geburt zur Prävention der B-Streptokokkeninfektion bei Neugeborenen vor.² Todd-Hewitt-Bouillon mit Gentamicin and Nalidixinsäure (oder Lim-Bouillon) wird verwendet, um die Gewinnung von Streptokokken der Gruppe B auf Schafblutagar zu maximieren.^{2,3}

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.⁴

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Todd-Hewitt-Bouillon ist ein Mehrzweckmedium, das primär für die Kultivierung von β -hämolytischen Streptokokken insbesondere bei serologischen Studien verwendet wird.^{5,6} Das Medium ist aufgrund seines Pepton-, Dextrose- und Salzgehalts äußerst nährstoffreich. Dextrose stimuliert die Bildung von Hämolsin. Natriumphosphat und Natriumkarbonat agieren als Puffer zur Neutralisierung der Säure, die bei der Fermentierung der Dextrose gebildet wird, und schützen somit das Hämolsin vor der Inaktivierung durch die Säure.⁷

Die Selektivität für B-Streptokokken wird durch die Zugabe von Gentamycin und Nalidixinsäure in das Medium erreicht. Selektive Anreicherungsbouillons vereinen die Vorteile sowohl der Anreicherung als auch der Auswahl, da Sie Bedingungen bieten, die das Wachstum von Streptokokken der Gruppe B fördern und das Wachstum der Kontaminanten hemmen.

VII REAGENZIEN

Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser

Herzinfusion (von Frischgewebe)	3,1	g
Peptone	20,0	g
Dextrose	2,0	g
Natriumchlorid	2,0	g
Natriumphosphat	0,4	g
Natriumcarbonat	2,5	g
Gentamicin	8,0	mg
Nalidixinsäure	15,0	mg

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Röhren mit fest sitzenden Verschlusskappen sind vorsichtig zu öffnen, um Verletzungen aufgrund 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“⁸⁻¹¹ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Präparierte Röhrchen, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Röhrchen nach Erhalt bei 2 – 8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nicht einfrieren oder überhitzen. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. In Röhrchen gemäß Kennzeichnung aufbewahrte Nährbögen können bis zum Verfallsdatum inokuliert und über die empfohlene Zeit inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Halbbarkeit des Produkts

Röhrchen bei Anzeichen von Kontamination durch andere Mikroorganismen, Verfärbung, Eintrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Nähere Informationen sind der entsprechenden Fachliteratur zu entnehmen.^{4,12} Die Probenentnahme sollte vor der Verabreichung von Antibiotika erfolgen. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Antiseptische Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Die Röhrchen inokulieren und mit locker aufgesetzten Kappen in einer aeroben Atmosphäre 18 bis 24 h mit oder ohne Kohlendioxid bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubieren.

Wenn eine Trübung zu beobachten ist, von der Bouillonkultur eine Subkultur auf einer Schafblut-Agarplatte anlegen; ansonsten vor dem Entsorgen weitere 24 h inkubieren.^{3,4,13}

Qualitätssicherung durch den Anwender

Siehe „Qualitätskontrollverfahren“.

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 einem **Trypticase-Soja-Agar** mit 5 % Schafblut (TSA II) anlegen und 18 bis 24 Stunden oder, sofern erforderlich, bis zu 48 h inkubieren. Die Organismen, von denen vermutet wird, sie seien Streptokokken der Gruppe B (β - oder nichthämolytisch, grampositiv und katalasenegativ). Eine spezielle Identifizierung kann beispielsweise mit Streptokokken-Gruppierungsseren, dem CAMP-Test oder anderen Verfahren durchgeführt werden.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zum Nachweis müssen die Organismen in Reinkultur vorhanden sein. Für die endgültige Identifizierung sollten morphologische, biochemische oder serologische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{4,12,14}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe wurden alle Chargen von Todd-Hewitt-Bouillon mit Gentamicin und Nalidixinsäure auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Repräsentative Proben der Charge werden mit 1,0 mL *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12386) inokuliert und so weit verdünnt, bis sie max. 1000 koloniebildende Einheiten (KBE) pro mL enthalten sowie mit 1,0 mL *Escherichia coli* (ATCC 25922) inokuliert und so weit verdünnt, bis sie max. 10^5 KBE/mL enthalten. Inokulierte Röhrchen werden mit gelösten Verschlusskappen bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ inokuliert. *S. agalactiae* zeigt innerhalb von 3 Tagen mäßiges bis starkes Wachstum, während *E. coli* nach einer Inkubation von 3 Tagen gehemmt ist.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
299486	BD BBL Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid , Karton mit 100 Röhrchen der Größe K

XIV LITERATUR

1. Federal Register. 1994. Prevention of group B streptococcal disease: a public health perspective. Fed. Regist. 59:64764-64773.
2. Centers for Disease Control and Prevention. 2002. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 51 (No. RR-11):1.
3. Ruoff, K.L., R.A. Whitley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*, p. 405-421. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Tenover, M.A. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.

5. 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.
6. Updyke, E.L., and M.I. Nickle. 1954. A dehydrated medium for the preparation of type specific extracts of group A streptococci. *Appl. Microbiol.* 2:117-118.
7. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Isenberg, H. (ed.). 2004. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1, 2 and 3, 2nd 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.

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