

KALİTE KONTROLÜ PROSEDÜRLERİ**I GİRİŞ**

Lim Broth grup B streptococci'nin (*Streptococcus agalactiae*) seçici zenginleştirilmesi için kullanılır.

II PERFORMANS TESTİ PROSEDÜRÜ

1. Aşağıda listelenen kültürler ile temsili örnekleri inoküle edin.
 - a. Steril 1,0 mL pipetler kullanarak, tüpleri 18 ila 24 saatlik **Trypticase** Soy Broth kültürlerinin 1,0 mL seyreltilmeleri ile inoküle edin. Seyreltim, *S. agalactiae* için 1.000 veya daha az CFU/mL ve *E. coli* için $1,0 \times 10^5$ CFU/mL içermelidir.
 - b. Tüpleri, kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de aerobik atmosferde inkübe edin.
2. 3 güne kadar tüpleri gelişme ve reaksiyonlar açısından inceleyin.
3. Beklenen Sonuçlar

Organizmalar	ATCC	Geri Kazanım
* <i>Streptococcus agalactiae</i>	12386	Gelişim (orta ila yoğun)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	İnhibisyon (kısmi ila tam)

*Kullanıcı tarafından Kalite Kontrolü için tavsiye edilen organizma.

NOT: Bu besiyeri, CLSI M22-A3'e göre Kullanıcı KK testinden muafır.

III EK KALİTE KONTROLÜ

1. Tüpleri "Ürünün Bozulması" altında tanımlandığı şekilde inceleyin.
2. Mevcut olan herhangi bir fiziksel bozukluğun kullanımı etkilemeyeceğinden emin olmak için temsili tüpleri görsel olarak inceleyin.
3. $7,8 \pm 0,2$ spesifikasyonuna uyması için pH değerini oda sıcaklığında potansiyometrik olarak belirleyin.
4. İnoküle edilmemiş temsili tüpleri 20–25 °C ve 30–35 °C'de inkübe edin ve 7 gün sonra mikrobiyal kontaminasyon açısından inceleyin.

ÜRÜN BİLGİLERİ**IV KULLANIM AMACI**

Lim Broth, özellikle genital örneklerden grup B streptococci'nin (*Streptococcus agalactiae*) seçici zenginleştirilmesi için kullanılır.

V ÖZET VE AÇIKLAMA

1970'lerdeki doğuşundan itibaren, neonatal grup B streptokokal hastalığı yeni doğanlar arasında hastalık ve ölümün ana bir bulaşıcı bir neden haline gelmiştir. 1994'ten önce, tahmini 7.600 invazif grup B streptokokal hastalık epizodu, primer olarak sepsis ve menenjit, bu epizodların yaklaşık olarak %80'i yaşamın birinci haftası dahilinde meydana gelen erken beliren hastalığı temsil etmek üzere, Amerika Birleşik Devletleri'nde yeni doğanlarda her yıl meydana gelmiştir.¹ Hastalık yenidoğanlara anorektum veya genital yolunda grup B streptokok taşıyan bir anneden dikey iletim yoluyla yayılmaktadır. Lim ve ekip arkadaşları böyle maternite hastalarını hızlıca izlemek için zenginleştirilmiş, seçici broth besiyerinin kullanımını ve lam koagülasyon testini birleştirmiştir.²⁻⁵

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) neonatal grup B streptokokal hastalığın önlenmesi için izleme ve intrapartum kemoprofilaksis kullanımı ilkelerini ortaya koymuştur.⁶ Todd Hewitt Broth'un kolistin ve nalidiksik asitle kullanımı koyun kanı agarında plaklama ile grup B streptokok geri kazanımı ihtimalini maksimuma çıkarmak için önerilen bir besiyeridir.¹ Lim Broth, zenginleştirilmiş grup B streptokok gelişimi için, önerilen konsantrasyonlarda kolistin ve nalidiksik asit ve ayrıca maya ekstraktı eklenmesi ile Todd Hewitt Broth'tan hazırlanmıştır.²

Grup B streptokoklar parturien olmayan kadınlarda ve erkeklerde sepsis vakalarında ve eklem enfeksiyonlarında, kemik iliği iltihabında, idrar yolu enfeksiyonlarında ve yara enfeksiyonlarında da bulunmuştur. Hasar görmüş hastalarda endokardit, pnömoni ve deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarıyla ilişkilendirilmektedir.⁷

VI PROSEDÜR İLKELERİ

Todd Hewitt Broth bazı birincil olarak özellikle serolojik çalışmalarda, β -hemolitik streptococci kültürasyonu için kullanılan genel amaçlı bir besiyeridir.⁸

Peptonlar, dekstroz ve tuzlar streptokokların gelişimi için mükemmel bir besin bazı sağlar. Eklenen maya ekstraktı zengin bir B-kompleks vitamini kaynağıdır. Dekstroz hemolisin üretimini stimüle eder. Disodyum fosfat ve sodyum karbonat, karbonhidrat fermentasyonu sırasında üretilen asiditeye karşı reaksiyon göstermek için tamponlama eylemi sağlar, böylelikle hemolisini asit tarafından inaktive edilmekten korur. Nalidiksik asit ve kolistin gram-negatif bakterilerin gelişimini baskılar.

VII REAKTİFLER

Lim Broth

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül*

(Katılardan) Kalp İnfüzyonu	3,1	g
Peptonen.....	20,0	g
Dekstroz.....	2,0	g
Sodyum Klorür	2,0	g
Disodyum Fosfat	0,4	g
Sodyum Karbonat	2,5	g
Maya Ekstraktı	10,0	g
Kolistin	0,01	g
Nalidiksik Asit.....	0,015	g

*Performans kriterlerini karşılamak üzere gereken şekilde ayarlanmış ve/veya desteklenmiştir.

Uyarılar ve Önlemler: *In vitro* Diyagnostik Kullanım içindir.

Sıkılmış kapaklı tüpler, camın kırılmasına bağlı yaralanmaları önlemek için dikkatli bir şekilde açılmalıdır.

Klinik örneklerde hepatit virüsleri ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü de dahil olmak üzere patojenik mikroorganizmalar bulunabilir. Kan veya diğer vücut sıvılarıyla kontamine olan tüm öğelerle çalışılırken, "Standart Önlemler"⁹⁻¹² ve kurumsal düzenlemeler takip edilmelidir. Kullanımdan sonra, hazırlanan tüpler, örnek kapları ve diğer kontamine malzemeler atılmadan önce otoklavlanarak sterilize edilmelidir.

Saklama Talimatları: Alındıktan sonra, tüpleri karanlıkta 2 ila 8 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve aşırı ısıtmaktan kaçının. Kullanıma hazır olana kadar açmayın. Işığa maruz kalmamasını sağlayın. Kullanım öncesine kadar etikette belirtildiği şekilde saklanan tüp besiyeri, son kullanma tarihine kadar inoküle edilebilir ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir. Besiyerinin inokülasyon öncesinde oda sıcaklığına gelmesini bekleyin.

Ürünün Bozulması: Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma veya diğer bozulma belirtileri görmeniz halinde tüpleri kullanmayın.

VIII ÖRNEK TOPLAMA VE İŞLEME

Kültür için uygun örnekler çeşitli teknikler kullanılarak işlenebilir. Ayrıntılı bilgi için ilgili metinlere bakın.^{7,13} Örnekler, antimikrobiyal ajanlar verilmeden önce alınmalıdır. Örneklerin laboratuvara hızlı bir şekilde ulaştırılması için gerekli düzenlemeler yapılmalıdır.

IX PROSEDÜR

Sağlanan Malzemeler: Lim Broth

Gerekli Fakat Sağlanmamış Malzemeler: Yardımcı kültür besiyeri, reaktifler, kalite kontrol organizmaları ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Test Prosedürü: Aseptik teknikleri uygulayın.

Tüpleri kapakları gevşek bir halde 35 ± 2 °C'de karbondioksit eklenmiş veya eklenmemiş aerobik atmosferde inoküle ve inkübe edin. İsterseniz, 5 saatlik inkübasyon sonrası grup B streptokoklar için bir lam koagülasyon testi gerçekleştirin.⁴

18–24 saat sonra türbidite gözlemlenirse, broth kültüründen koyun kanı agar plağına alt kültür uygulayın; aksi halde, atmadan önce ilave 24 saat inkübe edin.¹

Kullanıcı tarafından Kalite Kontrolü: "Kalite Kontrolü Prosedürleri"ne bakın.

Kalite Kontrolü gereksinimleri ilgili yerel, resmi ve/veya federal düzenlemelere veya akreditasyon gerekliliklerine ya da laboratuvarınızın standart Kalite Kontrolü prosedürlerine uygun olarak gerçekleştirilmelidir. Kullanıcının, uygun Kalite Kontrolü uygulamaları için ilgili CLSI yönergelerine ve CLIA düzenlemelerine uyması önerilir.

Tüpe koyulmuş besiyerinin pH değerini potansiyometrik olarak belirlemek için tüplere oturacak şekilde yeterince küçük boyutta tek bir elektrot kullanılmalıdır. Elektrotun ucu, broth besiyerinin yüzeyinin altına yerleştirilmelidir.

X SONUÇLAR

Broth besiyerindeki gelişim, aşılınmamış bir kontrole kıyasla türbidite varlığı ile gösterilir.

Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II) plağına alt kültürleyin ve 18–24 s boyunca veya gerekirse 48 s'ye kadar inkübe edin. Grup B streptokoklarını ortaya koyan organizmaları tanımlayın (β- veya hemolitik olmayan, gram-pozitif kokki ve katalaz-negatif). Spesifik tanımlama gerçekleştirilebilir, örn, streptokokal gruplama serası, CAMP testi veya diğer prosedürler kullanılarak.

Jones ve ark. kültürdeki organizmalardaki konsantrasyon mL başına 10⁷ veya daha fazla olduğunda inkübasyonun 5 saatinden sonra lam koagülasyonu ile grup B streptokokların saptandığını bildirmiştir.⁴

XI PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

Teşhis için, organizma saf kültürde bulunmalıdır. Nihai teşhis için morfolojik, biyokimyasal ve/veya serolojik testler gerçekleştirilmelidir. Detaylı bilgiler ve tavsiye edilen prosedürler için ilgili metinlere bakın.^{7,13,14}

XII PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Nguyen ve ekibi, **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA)** ile birlikte Lim Broth'u gebe kadınların alt genital yollarından grup B streptokok tespitinde "altın standart" olarak kullanmıştır. 524 kadından 90'ı ya Lim Broth'ta ya da TSA'da pozitif kültürle sahip olmuştur. Lim Broth'un duyarlılığı, spesifitesi, pozitif tahmini değeri ve negatif tahmini değeri, sırasıyla %97 (87/90), %100 (434/434), %100 (87/87) ve %97 (434/437) olmuştur.¹⁵

XIII TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

Kat. No.	Açıklama
292209	BD BBL Lim Broth, 5 mL, 10'lu boyut K tüp paketi
296266	BD BBL Lim Broth, 5 mL, 100'lü boyut K tüp kutusu

XIV REFERANSLAR

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.

BD Diagnostics Teknik Desteği: yerel BD temsilcinizle temasa geçin veya www.bd.com/ds adresine başvurun.



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.