



BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)

HASZNÁLATI JAVASLAT

A **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** (B csoportú *Streptococcus* differenciáló agar (Granada tápközeg)) a *Streptococcus agalactiae* (B csoportú *Streptococcus*) klinikai mintákból történő izolálására és azonosítására használható.

AZ ELJÁRÁS MŰKÖDÉSI ELVE ÉS MAGYARÁZATA

Mikrobiológiai módszer.

A *Streptococcus agalactiae* számos újszülöttkori fertőzés okozója, beleértve a szepszist, a meningitist és a több szervet érintő fertőzéseket.¹⁻³ Az újszülöttek az édesanyjuktól fertőződnek, akik a kórokozót tünetmentesen hordozzák a hüvelyi flórában. Ez 1000 szülésre vetítve 1,5 esetben fordul elő, a mortalitás 8,7% körüli.³ Kimutatták, hogy a kórokozónak a terhes nők hüvelyi flórájából való kimutatása után az újszülöttek megfelelő kezelésével a fertőzés veszélye szignifikánsan csökkenthető.^{2,3} A hüvelyi mintákból származó kórokozók izolálását hagyományosan véres agar vagy szelektív véres agar tápközegen végzik, a módszer a béta hemolitikus reakció kimutatásán alapul, amit biokémiai vagy szerológiai azonosítás követ.¹ A legfrissebb vizsgálatok szerint a hüvelyi flórában lévő kis számú *S. agalactiae* esetén is fennáll az újszülött megfertőződésének veszélye. Ezért a minták vizsgálatakor dúsítási módszerek használatát ajánlják, például a LIM Broth tápleves használatát.⁴ Viszont ez a dúsító tápleves nem teljes mértékben szelektáló az *S. agalactiae*-ra nézve, és a módszer más Gram-pozitív mikroorganizmusokat is feldúsít, amelyek esetlegesen elfedhetik az *S. agalactiae* jelenlétét.

Az elmúlt években az 1977-ben leírt Islam tápközeg módosított változatait tesztelték abból a szempontból, hogy mennyire alkalmas a mikroorganizmus megbízható kimutatására és izolálására.^{5,6} Ezekben a tápközegeken, akárcsak a New Granada tápközegen, amely az Islam tápközeg egyik újabb módosított változata, az *S. agalactiae* béta hemolizáló törzsei narancssárga-lazacvörös színű telepeket fejlesztettek.^{7,8} A telep színét a mikroorganizmus saját pigmentje, a granadaen adja, amely egy ornithin rhamno-polyen.¹⁶ Ez a pigmentáció rendkívül specifikus, és a nem B csoportú streptococcusok, illetve más mikroorganizmusok esetében nem fordul elő. A New Granada tápközeg stabilitása azonban korlátozott.^{9,10}

A **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)**, amely a New Granada tápközeg továbbfejlesztett, nagyobb stabilitású és jobb szelektivitású változata. A proteóz pepton no. 3 fehérjeforrás, és biztosítja a pigment-termelődéshez és a szaporodáshoz szükséges alapanyagokat. A keményítő tápanyag, valamint stabilizálja a pigmentet. A glükóz, a piruvát és a cisztein tápanyagok. A magnézium nyomelem. A MOPS és a foszfát kombinációja biztosítja a pH-pufferoló hatást. A kristályibolya gátolja a staphylococcusokat. A tápközeg a kísérő flóra (például a Gram-negatív baktériumok és a szigorúan anaerob organizmusok) gátlásához, valamint a pigmentképződés elősegítéséhez inhibitorokat és indukáló anyagokat is tartalmaz.

REAGENSEK

BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)

1 liter szűrt vízre vonatkoztatott összetétel*

Proteóz pepton no. 3	25,0 g	Dinátrium-hidrogén-foszfát	10,7 g
Kukoricakeményítő	14,0	Kristályibolya	0,0005
Glükóz	2,5	Inhibitorok és indukáló anyagok	0,021
Piruvátsav nátriumsója	1,0	Agar	15,2
Cisztein-hidroklorid	0,1		
Magnézium-szulfát	0,3		
MOPS (3-morfolinpropán szulfonsav), 50–50 mól%-os sav-nátrium só	11,0		

pH 7,4 ± 0,2

*Úgy beállítva és/vagy kiegészítve, hogy megfeleljen a teljesítménykövetelményeknek.

FIGYELMEZTETÉS

IVD . Használata szakértelmet igényel. 

Ne használja a lemezeket, ha rajtuk mikrobiális szennyeződést, elszíneződést, kiszáradást vagy betöredezést, illetve a károsodás bármilyen más jelét észleli.

A steril munkával, a biológiai veszélyekkel és a használt termékek hulladékként való kezelésével kapcsolatban olvassa el az **ÁLTALÁNOS HASZNÁLATI ÚTMUTATÓT**.

TÁROLÁS ÉS ELTARTHATÓSÁG

Átvétel után a felhasználásig a lemezeket sötét helyen, 2 – 8°C-on, az eredeti lezárt tasakban kell tárolni. Kerülni kell a lemezek megfagyását, illetve túlmelegedését. A lemezeket a lejárat időn (lásd a csomagolás címkéjét) belül kell inokulálni, és az ajánlott ideig kell inkubálni.

A felbontott 10-es csomagok lemezei egy hétig használhatók fel, ha tiszta helyen, 2 – 8°C-on tárolják őket.

FELHASZNÁLÓI MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Inokuláljon reprezentatív mintákat a következő törzsekkel (a részleteket lásd az **ÁLTALÁNOS HASZNÁLATI ÚTMUTATÓBAN**). Inkubálja a lemezeket anaerob körülmények között $35 \pm 2^\circ\text{C}$ -on 18 – 24 órán át.

Törzsek	Szaporodási eredmény
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 12386	Jól vagy kitűnően szaporodik; kis-közepes méretű, narancssárga telepek, színtelen szegéllyel vagy anélkül
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Szaporodik; nagyon apró színtelen-szürke telepekkel
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Szaporodik; közepes méretű, színtelen-szürke telepekkel
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Teljes gátlás
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Részleges vagy teljes gátlás
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Részleges vagy teljes gátlás; teljesen gátolt elterjedés, színtelen telepek
Nem inokulált	Fehér vagy enyhén szürkés, átlátszatlan

ELJÁRÁS

Szállított anyagok

BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium) (90 mm **Stacker** lemezek). Mikrobiológiailag ellenőrzött.

Nem szállított anyagok

Kiegészítő tenyésztápközegek, reagensek és laboratóriumi eszközök, szükség szerint.

Minták típusa

A **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** az *S. agalactiae* (B csoportú streptococcus) bármely humán klinikai mintából történő izolálására használható. A leggyakoribb minták a női ivarutakból tamponnal vett minták, illetve az újszülöttek tamponnal, illetve más módon levett mintái. A mintavételnél és -szállításnál alkalmazza a megfelelő technikákat.^{1,11}

A teszt kivitelezése

A mintát a laboratóriumba való beérkezés után a lehető leghamarabb szélessze a **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** tápközegen. A szélesztett lemez elsősorban tiszta tenyészetek izolálására szolgál a vegyes flórájú mintákból. Amennyiben a tenyésztést közvetlenül a mintavételi tamponról végzi, forgassa meg a tampont a tápközeg kis felületén, a széléhez közel, majd az izoláláshoz erről az inokulált területről szélesszen. Inkubálja a lemezeket anaerob körülmények között 18 – 24 óráig $35 \pm 2^\circ\text{C}$ -on. Amennyiben a lemezek negatívak, inkubálhatja őket további 18 – 24 óráig, bár erre általában nincs szükség. Annak érdekében, hogy minden, a fertőzésben vagy a kolonizációban résztvevő kórokozó azonosítható legyen, a mintát véres agar lemezeken is széleszteni kell, például **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (Columbia Agar 5% juhvérrrel) lemezeken, amelyeket 18 – 48 óráig kell inkubálni CO_2 -dal dúsított levegőn, $35 \pm 2^\circ\text{C}$ -on. Ha folyékony elődúsító tápközeget, például

Lim Broth táplevest alkalmaztak, azzal továbbtenyésztésre **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** lemezeket lehet inokulálni a táplevesből 18 – 24 órás inkubáció után kivett egy kicsnyi mennyiséggel, majd a lemezeket a fentiek szerint inkubálni kell.

Eredmények

Az inkubálás után a béta hemolizáló *S. agalactiae*-törzsek kicsi, közepes méretű, halvány vagy élénk narancsszínű, illetve lazacvörös színű telepeket fejlesztenek, amelyeket szintelen szegély vehet körbe. Annak érdekében, hogy a halvány pigmentáltságú törzsek is azonosíthatók legyenek, a lemezeket fehér háttér előtt kell leolvasni. A narancssárga bármilyen árnyalatát pozitívnak kell tekinteni. Leolvasáskor a lemezeket ne tegye közvetlenül a fényforrás alá! A staphylococcusok, a Gram-negatív pálcák és a szigorúan anaerob organizmusok a tápközegen általában teljesen gátoltak. A legtöbb egyéb streptococcus és enterococcus gátlás nélkül szaporodik, azonban a telepeik szintelenek vagy szürkék. Az *S. agalactiae* nem hemolizáló törzsei is szürke-szürkés-kék telepeket alkotnak. Ritkán (a terhes nők legfeljebb 4%-ánál) fordulnak elő.

A nem hemolizáló B csoportú streptococcusok és az enterococcusok, illetve a nem B csoportú streptococcusok elkülönítésére PYR teszt használható (**BD DrySlide PYR készlet (kat. sz. 231747)** felhasználásával) közvetlenül a **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** tápközegen kialakult szürke-szürkés-kék telepeken: a enterococcusok, a *Streptococcus pyogenes* és több más streptococcus PYR-pozitív (=vörös-lila színű 1 percen belül), míg az *S. agalactiae* és több más streptococcus PYR-negatív (=sárgás-szintelen).¹⁵ A szürke vagy szürkés-kék telepekből származó PYR-negatív eredményt adó izolátumokat további teszteknek kell alávetni a nem hemolizáló *S. agalactiae*-törzs jelenlétének kimutatása céljából, például szerológiai tipizálással.

Az ezen a tápközegen megjelenő narancssárga pigmentáció rendkívül jellemző az *S. agalactiae*-re, és a megerősítéshez nincs szükség szerológiai vagy biokémiai azonosításra. Azonban a szerológiai tipizálást a közvetlenül a **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** tápközegről, továbbtenyésztés nélkül el lehet végezni. Erre a célra a **BBL Streptocard Enzyme Latex Test Kit** (kat. sz. 240950) használható. Ezenkívül a **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** lemezeket is ellenőrizni kell az *S. agalactiae* nem hemolizáló törzseinek és más patogének jelenlétére.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK ÉS AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

A **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** a *Streptococcus agalactiae* (B csoportú streptococcusok) bármely humán klinikai mintából történő izolálására és azonosítására használható. Az ezen a tápközegen megjelenő narancssárga telepszín rendkívül jellemző az *S. agalactiae*-ra (lásd: **Teljesítményjellemzők**) ezért további megerősítő tesztek nem szükségesek. Kétséges esetekben, illetve halvány pigmentáció esetében a szerológiai csoportosítás és/vagy egy PYR teszt közvetlenül az izolációs lemezeiről elvégezhető.

Ismert, hogy az *S. agalactiae*-nak a telepek pigmentációjáért és a hemolizin termelődéséért felelős génjei kapcsolatosak.^{12,13} Az *S. agalactiae*-törzsek hozzávetőlegesen 1 – 2%-a nem hemolizál¹⁴, és így előfordulhat, hogy ezek telepei a **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** tápközegen nem pigmentáltak. Azonban egy belső vizsgálat megállapította, hogy a gyenge hemolizin termelők, amelyek a legtöbb véres agaron nem hemolizálóként jelennek meg, gyakran egyben gyenge pigmentációjúak is. A hemolizin az *S. agalactiae* egyik fő patogenitási faktoraként ismert.^{12,13}

A fertőzésben részt vevő összes patogén, beleértve a nem hemolizáló B streptococcusokat is, kimutatásához a mintával egy véres agart is inokulálni kell, például **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** lemezek használatával.

A **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** nem használható az *S. agalactiae*-től különböző streptococcusok és más, hasonló fertőzést okozó patogének (például a *Listeria monocytogenes*) kimutatására.

Állatorvosi eredetű mintákkal még nem határozták meg a tápközeg hatékonyságát.

Teljesítményjellemzők

A teljesítményjellemzők vizsgálatát 151 klinikai mintával végezték el (hüvelyi és cervikális tamponok, újszülöttektől vett különféle minták), amelyek a hagyományos véres agaron való tenyésztéssel és szerológia tipizálással *S. agalactiae*-ra pozitívak voltak.¹⁵ Ebből a 151 mintából 148 volt pozitív **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** tápközegen továbbtenyésztve, és egy nem hemolizáló és 147 béta hemolizáló izolátumot eredményeztek.

A **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** tápközegen, anaerob körülmények között 18 – 24 órára inkubálva, a 151 mintából 149 eredményezte a B streptococcus szaporodását; ezekből 148 fejlesztett valamilyen típusú narancssárga telepet (érzékenység 98%), amelyek szerológiailag azonosak voltak a B streptococcusokkal. A 148 tenyészetből három adott „nagyon halvány narancssárga” eredményt. Ezt a három tenyészetet kiemelve, az érzékenység 96%-osnak adódik.

Ugyanebben a vizsgálatban a **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** lemezeket inokulálás után széndioxid-dúsított aerob atmoszférában inkubálták. Ilyen inkubációs feltételek mellett az érzékenység 96,8%-os volt. Ezekben a lemezekben 14 tenyészet kapott „nagyon halvány narancssárga” eredményt. Ezeket levonva, az érzékenység 87,4%-osnak adódik.

Az anaerob inkubálás jelentősen több, erősen narancssárga telepet eredményezett, mint a széndioxid-dúsított aerob körülmények közötti inkubálás ($P < 0,005$). Ezenkívül anaerob inkubálás mellett az összes törzs nagyobb telepeket fejlesztett. **Ebből következőleg az anaerob körülmények megkönnyítik a narancssárga telepek detektálását.**

A vizsgálatba ezen kívül bevontak még 52, korábban *S. agalactiae*-negatívként meghatározott mintát is. A **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** tápközegen tenyésztve ezek nem adtak hamis pozitív eredményt (specifititás = 100%).

A **BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)** tápközeg használatával a B streptococcusok kimutatása hatékonyabb és gyorsabb, ezenkívül költségkímélő és időtakarékos, mivel szükségtelenné válik a narancssárga telepek további tesztekkel történő azonosítása.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Ruoff, K.L., R.A. Whaley, and D. Beighton. *Streptococcus*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Schuchat, A.. 1998. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States. Clin. Microbiol. Rev. 11: 497-513.
3. Juncosa, T., et al. 1998. Infección neonatal por *Streptococcus agalactiae*. Estudio multicéntrico en el área de Barcelona. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 16: 312-315.
4. Centers for Disease Control and Prevention. 1996. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: a public health perspective. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 45: 1-24.
5. Islam, A.K.M. 1977. Rapid recognition of group B streptococci. Lancet I: 256-257.
6. de la Rosa, M., et al. 1983. Granada medium for detection and identification of group B streptococci. J. Clin. Microbiol. 18: 779-785.
7. de la Rosa, M., et al. 1992. New Granada medium for detection and identification of group B streptococci. J. Clin. Microbiol. 30: 1019-1021.
8. Reardon, E.P., et al. 1984. Evaluation of a rapid method for the detection of vaginal group B streptococci in women in labor. Am. J. Obstet. Gynecol. 184: 575-578.
9. Overman, S.B., et al. 2002. Evaluation of methods to increase the sensitivity and timeliness of detection of *Streptococcus agalactiae* in pregnant women. J. Clin. Microbiol. 40: 4329-4331.
10. de la Rosa-Fraile, M. 2003. Granada agar sensitivity and detection of group B Streptococcus. Letter to the Editor. J. Clin. Microbiol. 41: 4007.
11. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Spellerberg, B., et al. 1999. Identification of genetic determinants for the hemolytic activity of *Streptococcus agalactiae* by ISS1 transposition. J. Bacteriol. 181: 3212-3219.
13. Pritzlaff, C.A., et al. 2001. Genetic basis for the β -haemolytic/cytolytic activity of group B *Streptococcus*. Molec. Microbiol. 39: 236-247.

14. Edwards, M. and J. Baker. 2000. *Streptococcus agalactiae*. In: Mandell, G.I., et al. (eds.) Principles and practice of infectious diseases. New York Medical Publications, New York, p. 2156-2167.
15. Jegyzett adatok. 2003; 2010. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Németország.
16. Rosa-Fraile, M., et al. 2006. Granadaene: proposed structure of the Group B Streptococcus polyenic pigment. Appl. Environm. Microbiol. 72: 6367-6370.

CSOMAGOLÁS/KISZERELÉSEK

BD Group B Streptococcus Differential Agar (Granada Medium)

REF 257079 Használatra kész lemezes tápközeg, 20 darabos csomag

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

További információkért forduljon a BD helyi képviselőjéhez.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD