BBL Lim Broth

L007461 • Rev. 06 • Abril 2015

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

Lim Broth (caldo Lim) se utiliza para el enriquecimiento selectivo de estreptococos del grupo B (*Streptococcus agalactiae*).

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
   a. Con pipetas estériles de 1,0 mL, inocular tubos con 1,0 mL de diluciones de cultivos de caldo de soja **Trypticase** de 18 – 24 h. La dilución utilizada debe contener hasta 1.000 UFC/mL de *S. agalactiae* y 1,0 x 10^5 UFC/mL de *E. coli*.
   b. Incubar los tubos con las tapas flojas a una temperatura de 35 ± 2 °C en atmósfera aerobia.
2. Examinar los tubos en búsqueda de crecimiento durante un periodo de hasta 3 días.
3. Resultados previstos

Organismos	ATCC	Recuperación
**Streptococcus agalactiae*	12386	Crecimiento (moderado a denso)
**Escherichia coli*	25922	Inhibición (parcial a completa)

*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

NOTA: Según CLSI M22-A3, no es necesario que el usuario realice un control de la calidad de este medio.

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos como se describe en la sección “Deterioro del producto”.
2. Examinar visualmente los tubos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Determinar el pH potenciométricamente a temperatura ambiente para verificar el cumplimiento de la especificación de 7,8 ± 0,2.
4. Incubar tubos representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar si presentan contaminación microbiana después de 7 días.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

Lim Broth se utiliza para el enriquecimiento selectivo de estreptococos del grupo B (*Streptococcus agalactiae*), en especial a partir de muestras genitales.

V RESUMEN Y EXPLICACION

Desde su aparición en los años 70, la enfermedad neonatal estreptocócica del grupo B se ha convertido en la causa infecciosa más importante de enfermedad y fallecimiento entre los recién nacidos. Antes de 1994, aproximadamente 7.600 casos de enfermedad invasiva estreptocócica del grupo B, principalmente sepsis y meningitis, ocurrían en los recién nacidos cada año en Estados Unidos, siendo precoces alrededor del 80% de dichos casos (dentro de la primera semana de vida)[1]. La enfermedad se propaga a los recién nacidos por transmisión vertical de madre portadora de estreptococos del grupo B en el recto o los genitales. Lim y colegas combinaron el uso de un medio de caldo selectivo enriquecido y la prueba de coaglutinación en portaobjetos para detectar rápidamente dichas pacientes[2-5].

Los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) han propuesto directrices para la detección y el uso de la quimioprofilaxis intraparto para la prevención de la enfermedad neonatal estreptocócica del grupo B[6]. El uso de Todd Hewitt Broth con colistina y ácido nalidíxico se recomienda para maximizar las posibilidades de recuperación de estreptococos del grupo B en placas de agar sangre de carnero[1]. Lim Broth se prepara a partir de Todd Hewitt Broth añadiendo colistina y ácido nalidíxico, en las concentraciones recomendadas, más extracto de levadura para favorecer el crecimiento de los estreptococos del grupo B[2].

También se han detectado estreptococos del grupo B en casos de sepsis en mujeres no parturientas, hombres, infección de las articulaciones, osteomielitis, infección de las vías urinarias e infección de heridas. Se asocian con endocarditis, neumonía e infecciones cutáneas y de tejidos blandos en pacientes inmunodeprimidos[7].

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Todd Hewitt Broth es un medio de uso general que se utiliza principalmente para el cultivo de estreptococos beta-hemolíticos, en especial para pruebas serológicas[8].

Las peptonas, la dextrosa y las sales proporcionan una excelente base nutritiva para el crecimiento de estreptococos. El extracto de levadura añadida es una rica fuente de vitaminas del complejo B. La dextrosa estimula la producción de hemolisina. El fosfato disódico y el carbonato sódico proporcionan una acción de tampón para contrarrestar la acidez producida durante la fermentación de los carbohidratos, lo que evita que el ácido inactive la hemolisina. El ácido nalidíxico y la colistina suprimen el crecimiento de las bacterias gram negativas.

VII REACTIVOS

Lim Broth

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Infusión de corazón de (sólidos)	3,1	g
Peptonas	20,0	g
Dextrosa	2,0	g
Cloruro sódico	2,0	g
Fosfato disódico	0,4	g
Carbonato sódico	2,5	g
Extracto de levadura	10,0	g
Colistina	0,01	g
Acido nalidíxico	0,015	g

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

Advertencias y precauciones: Para uso diagnóstico *in vitro*.
Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"[9-12] y las directrices del centro. Después de su utilización, los tubos preparados, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento: Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 8 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que vayan a utilizarse. Reducir al mínimo la exposición a la luz. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos recomendados de incubación. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto: No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo deben manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes[7,13]. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX PROCEDIMIENTO

Material suministrado: Lim Broth

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

Inocular los tubos e incubar con las tapas flojas a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia con o sin suplemento de dióxido de carbono. Si se desea, realizar una prueba de coaglutinación en portaobjetos para estreptococos del grupo B después de 5 h de incubación[4].

Si se observa turbidez después de 18 – 24 h, realizar un subcultivo del cultivo de caldo en una placa de agar sangre de carnero; de lo contrario, incubar unas 24 h adicionales antes de descartar[1].

Control de calidad del usuario: Véase "Procedimientos de control de calidad".
El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional aplicable, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

Se debería utilizar un electrodo suficientemente pequeño como para entrar en los tubos para determinar el pH potenciométricamente de los medios en tubos. La punta del electrodo se debe introducir en los caldos de cultivo.

X RESULTADOS

El crecimiento en el medio de caldo se indica por la presencia de turbidez en comparación con un control sin inocular.

Realizar un subcultivo en una placa de **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II) e incubar durante 18 – 24 h, o hasta 48 h en caso necesario. Identificar los organismos que posiblemente sean estreptococos del grupo B (β-hemolíticos o no hemolíticos, gram positivos o negativos a la catalasa). Se puede llevar a cabo una identificación específica; por ejemplo, con sueros para determinación del grupo estreptocócico, la prueba CAMP u otros procedimientos.

Jones et al. informaron la detección de estreptococos del grupo B por medio de la prueba de coaglutinación en portaobjetos después de 5 h de incubación, con una concentración de organismos en el cultivo de 10^7 por mL o más[4].

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Con fines de identificación, los organismos deben encontrarse en cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados[7,13,14].

XII CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

Nguyen et al. utilizaron Lim Broth junto con **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA) como patrón de referencia para la detección del *Streptococcus* del grupo B a partir de muestras de las vías genitales inferiores de mujeres embarazadas. De las 524 mujeres, 90 tuvieron resultados positivos en cultivos en Lim Broth o TSA. La sensibilidad, especificidad, valores de predicción de resultados positivos y negativos de Lim Broth eran del 97% (87/90), 100% (434/434), 100% (87/87) y 97% (434/437), respectivamente[15].

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
292209	**BD BBL** Lim Broth, 5 mL, pqt. de 10 tubos de tamaño K
296266	**BD BBL** Lim Broth, 5 mL, caja de 100 tubos de tamaño K

XIV REFERENCIAS

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. Yolken (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.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.

Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

EC REP 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.