



KVALITETSKONTROLLPROSEDYRER

I INTRODUKSJON

Lim Broth brukes til selektiv berikelse av gruppe B-streptokokker (*Streptococcus agalactiae*).

II UTFØRELSESTESTPROSEDYRE

1. Inokuler representantive prøver med kulturene oppgitt nedenfor.
 - a. Inokuler rør med 1,0 mL fortynninger av 18- til 24-timers **Trypticase**-soyabønnevekstmediumkulturer med sterile 1,0 mL-pipetter. Fortynningen som brukes, skal inneholde 1 000 CFU/mL eller mindre for *S. agalactiae* og $1,0 \times 10^5$ CFU/mL for *E. coli*.
 - b. Inkuber rør med løsnede korker ved 35 ± 2 °C i aerob atmosfære.
2. Kontroller rørene i opptil 3 dager for vekst.
3. Forventede resultater

Organismer	ATCC	Restituerings
* <i>Streptococcus agalactiae</i>	12386	Vekst (moderat til sterk)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Hemning (delvis til fullstendig)

*Anbefalt organismestamme for bruker kvalitetskontroll.

MERK: Dette mediet er fritatt for bruker kvalitetskontrolltesting i henhold til CLSI M22-A3.

III TILLEGGSKVALITETSKONTROLL

1. Undersøk rørene som beskrevet under "Produktforringing".
2. Undersøk de representative rørene visuelt for å forsikre at eventuelle fysiske defekter ikke vil påvirke bruken.
3. Mål pH potensiometrisk ved romtemperatur for overholdelse av spesifikasjonen til $7,8 \pm 0,2$.
4. Inkuber uinokulerte representative rør ved 20 – 25 °C og 30 – 35 °C og kontroller etter 7 dager for mikrobiell kontaminasjon.

PRODUKTFINFORMASJON

IV BRUKSOMRÅDE

Lim Broth brukes til selektiv berikelse av gruppe B-streptokokker (*Streptococcus agalactiae*), spesielt fra genitale prøver.

V SAMMENDRAG OG FORKLARING

Siden sykdommen dukket opp på 1970-tallet, har den neonatale gruppe B-streptokokksykdommen blitt hovedkilden til sykdom og dødsfall blant nyfødte. Før 1994 forekom 7 600 episoder av invasiv gruppe B-streptokokksykdom, primært sepsis og meningitt, hos nyfødte hvert år i USA. Omtrent 80 % av de episodene representerte sykdom i tidlig fase i den første leveuken.¹ Sykdommen spres til nyfødte gjennom vertikal overføring fra en mor som er bærer av gruppe B-streptokokker i anorektum eller kjønnskanalen. Lim et al. kombinerte bruken av et beriket, selektivt vekstmedium og objektglasskoagglutinasjonstest til å screene hurtig slike barselpasienter.²⁻⁵

CDC (Centers for Disease Control and Prevention [sentre for sykdomskontroll og forebygging]) har anbefalte retningslinjer for å screene og bruke intrapartum kjemoprofylakse for forebygging av neonatal gruppe B-streptokokksykdom.⁶ Bruken av Todd Hewitt-vekstmedium med kolistin og nalidiksinsyre er et medium som anbefales for å maksimere sannsynligheten for å restituere gruppe B-streptokokker ved dyrking på fåreblodagar.¹ Lim Broth-vekstmediet fremstilles av Todd Hewitt-vekstmedium ved å tilsette kolistin og nalidiksinsyre i anbefalte konsentrasjoner, i tillegg til gjærsoppekstrakt for bedre vekst av gruppe B-streptokokker.²

Gruppe B-streptokokker har også vært funnet i tilfeller av sepsis hos ikke-fødende kvinner og hos menn, og i felles infeksjoner, osteomyelitt, urinveisinfeksjoner og sårinfeksjoner. De assosieres med endokarditt, lungebetennelse og hud- og mykvevinfeksjoner i kompromitterte pasienter.⁷

VI PROSEDYREPRINSIPPER

Todd Hewitt Broth-base er et universalt medium som brukes primært til å dyrke β -hemolytiske streptokokker, spesielt for serologiske studier.⁸

Peptonene, dekstrosen og saltene gir en enestående næringsbase for vekst av streptokokker. Den tilsatte gjærsoppekstrakten er en rik kilde til B-kompleksvitaminer. Dekstrose stimulerer hemolysinproduksjon. Dinatriumfosfat og natriumkarbonat bufrer for å motvirke surheten som produseres under fermentering av karbohydratet, og beskytter dermed hemolysinet mot inaktivering av syren. Nalidiksinsyre og kolistin hemmer veksten av gramnegative bakterier.

VII REAGENSER

Lim Broth-vekstmedium

Tilnærmet sammensetning* per liter rensset vann

Hjerteinfusjon fra (tørrstoffer).....	3,1	g
Peptonen.....	20,0	g
Dekstrose.....	2,0	g
Natriumklorid.....	2,0	g
Dinatriumfosfat.....	0,4	g
Natriumkarbonat.....	2,5	g
Gjærekstrakt.....	10,0	g
Kolistin.....	0,01	g
Nalidiksinsyre.....	0,015	g

*Justert og/eller tilsatt som nødvendig for å oppfylle studiekriteriene.

Advarsler og forsiktighetsregler: Ved *in vitro*-diagnostisk bruk.

Rør med tette korker skal åpnes forsiktig for å unngå skade som følge av knusing av glass.

Patogene mikroorganismer, blant annet hepatittvirus og humant immunsviktvirus, kan være til stede i kliniske prøver. "Standard forsiktighetsregler"⁹⁻¹² og institusjonelle retningslinjer skal følges ved håndtering av alle elementer som er kontaminert med blod og andre kroppsvæsker. Alle ferdiglagde agarrør, prøvebeholdere og annet kontaminert materiale må steriliseres ved autoklaving etter bruk, før de avfallsbehandles.

Oppbevaringsinstruksjoner: Ved mottak, oppbevar rør mørkt ved 2 – 8 °C. Unngå frost og overoppheting. Åpnes ikke før det er klart til bruk. Utsettes for minst mulig lys. Rørmedier, oppbevart som angitt før bruk, kan inokuleres opptil utløpsdato og inkuberes som anbefalt. La mediet oppvarmes til romtemperatur før inokulering.

Produktforringelse: Ikke bruk rørene dersom de viser tegn til mikrobiell kontaminering, misfarging, uttørking eller andre tegn til svekkelse.

VIII PRØVEINNSAMLING OG HÅNDTERING

Prøver egnet for dyrking kan håndteres ved hjelp av forskjellige teknikker. For detaljert informasjon, se aktuelle tekster.^{7,13} Prøver skal tas før antimikrobielle agenser er blitt administrert. Det må legges til rette for umiddelbar levering til laboratoriet.

IX FRAMGANGSMÅTE

Materialer som følger med: Lim Broth-vekstmedium

Nødvendige materialer som ikke følger med: Supplerende vekstmedier, reagenser, kvalitetskontrollorganismer og laboratorieutstyr etter behov.

Testprosedyre: Bruk aseptiske teknikker.

Inokuler rør og inkuber med løsnede korker ved 35 ± 2 °C i en aerob atmosfære med eller uten tilsatt karbondioksid. Om ønsket, utføres en objektglasskoagglutinasjonstest for gruppe B-streptokokker etter 5 timers inkubasjon.⁴

Hvis turbiditet observeres etter 18 – 24 timer, lag subkultur fra vekstmediumkulturen til fåreblodagarplate. Ellers kan du inkubere i ytterligere 24 timer før den kastes.¹

Kvalitetskontroll for brukere: Se "Kvalitetskontrollprosedyrer".

Kvalitetskontrollkrav må utføres i henhold til lokale og/eller nasjonale retningslinjer eller akkrediteringskrav og ditt laboratoriums standard kvalitetskontrollprosedyrer. Det anbefales at brukeren refererer til aktuelle CLSI-retningslinjer og CLIA-bestemmelser for egnede kvalitetskontrollprosedyrer.

En enkeltelektrode som er liten nok til å passe i rørene, skal brukes til å måle pH potensiometrisk av medier på rør. Spissen på elektroden skal plasseres under overflaten av vekstmedier.

X RESULTATER

Vekst i vekstmediet indikeres av nærvær av turbiditet sammenlignet med en uinokulert kontroll.

Lag subkultur til en **Trypticase**-soyaagar med 5 % fåreblod (TSA II)-plate og inkuber i 18 – 24 timer eller opptil 48 timer om nødvendig. Identifiser organismer som kan tyde på gruppe B-streptokokker (β- eller ikke-hemolytiske, grampositive kokker og katalase-negative). Spesifikk identifisering kan utføres, for eksempel ved å bruke streptokokkgrupperingssera, CAMP-testen eller andre prosedyrer.

Jones et al. rapporterte påvisning av gruppe B-streptokokker med objektglasskoagglutinasjon etter 5 timers inkubasjon når konsentrasjonen av organismer i kulturen var på minst 10⁷ per mL.⁴

XI BEGRENSENINGER VED PROSEDYREN

For identifisering må organismer være i ren kultur. Morfologiske, biokjemiske og/eller serologiske tester skal utføres for endelig identifisering. Se aktuelle tekster for detaljert informasjon og anbefalte prosedyrer.^{7,13,14}

XII EGENSKAPER VED PRØVEUTFØRELSEN

Nguyen et al. brukte Lim Broth-vekstmedium i sammenheng med **Trypticase**-soyaagar med 5 % fåreblod (TSA) som "gullstandarden" for påvisning av gruppe B-streptokokker fra nedre kjønnskanal hos gravide kvinner. Av 524 kvinner hadde 90 positive kulturer enten i Lim Broth-vekstmedium eller TSA. Sensitiviteten, spesifisiteten, positiv prediktiv verdi og negativ prediktiv verdi av Lim Broth-vekstmedium var henholdsvis 97 % (87/90), 100 % (434/434), 100 % (87/87) og 97 % (434/437).¹⁵

XIII TILGJENGELIGHET

Kat. nr.	Beskrivelse
292209	BD BBL Lim Broth, 5 mL, pakke med 10 rør, størrelse K
296266	BD BBL Lim Broth, 5 mL, pakke med 100 rør, størrelse K

XIV REFERANSER

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.

Teknisk service og støtte for BD Diagnostics: ta kontakt med din lokale BD-representant eller gå til 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.