

Puritan[®] Lim Broth with Colistin and Nalidixic Acid

Intended use

The Puritan[®] Lim Broth Medium is a selective enrichment broth medium for use in selective qualitative procedures for the isolation of Group B Streptococcus (GBS) from clinical specimens.

Summary and explanation

Group B Streptococcus (GBS) is the most common cause of infections such as sepsis, meningitis and pneumonia among newborns. The disease is transmitted to newborns through the mother who carries GBS in her rectum or genital tract during birth. Approximately 7-20% of pregnant women are colonized with GBS in the vagina or rectum.^{1,2} To reduce the risk of infection, the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) and other organizations have published guidelines for screening and prevention of neonatal GBS disease. The CDC suggests using vaginal and rectal swabs with selective enrichment broths to detect GBS colonization from the suspected pregnant women for culture-based screening between 35 and 37 week's gestation.³⁻⁶

Puritan Lim Broth Medium consists of a polypropylene screw-cap vial containing 2 mL of modified Lim Broth enrichment medium. Modified Lim Broth medium is a selective enrichment broth. The peptones, dextrose and yeast extract provide nutritional base for growth of GBS. Nalidixic acid and colistin suppress growth of gram-negative bacteria.⁷

Principles of the procedure

Once a specimen is collected with a swab, it should be placed into the vial containing Lim Broth enrichment medium and incubated aerobically at 35-37°C for 18 to 24 hours prior to being subcultured onto a blood agar plate.

Reagents

Approximate modified Lim Broth enrichment medium formulation per liter

Casein Peptone	10.0g	Meat Peptone	10.0g	Yeast Extract	10.0g
Heart Infusion	3.1g	Sodium Chloride	2.0g	Dextrose	2.0g
Disodium Phosphate	0.4g	Sodium Carbonate	2.5g	Colistin Sulfate	10.0mg
Nalidixic Acid	15.0mg				

Optimum pH 7.8 + 0.2 @ 25°C

Precautions

For *in vitro* Diagnostic Use

- Clinical specimens are considered biohazard and must be handled in manner to protect laboratory personnel
- To be used by trained and qualified personnel using aseptic technique
- Clinical samples may contain human pathogens including hepatitis virus and Human Immunodeficiency Virus. Institutional and universally recognized guidelines should be followed when handling items contaminated with blood and other body fluids.⁸
- Specimen vials and other contaminated materials must be sterilized by autoclave before discarding.
- Do not use if the vial is damaged or detecting evidence of contamination, discoloration or leakage.

Storage

For optimum performance, store at 2-25°C. Avoid freezing and overheating.^{7,9}

Directions for use

[1] Obtain swab samples from distal vagina and anorectum between 35-37 weeks gestation.

[2] Inoculate Lim Broth Medium with swabs.

[3] Incubate tube aerobically or in 5% CO₂ at 35-37°C for 18-24 hours.

[4] After incubation, subculture Lim Broth enrichment medium to a nonselective blood agar plate and incubate aerobically or in 5% CO₂ at 35-37°C for 18-24 hours.

[5] Check blood agar plate at 24-48 hours for large, gray, translucent colonies with a small zone of beta-hemolysis or no hemolysis.

- If plating with a microbiology automation system, refer to the automation manual. Make sure to remove swab from the tube and discard prior to processing.

Specimen Collection and Handling

Specimens suitable for culture may be handled using various techniques. For detailed guidance, refer to appropriate references.^{10, 11} Specimens should be obtained before antimicrobial agents have been administered.

Quality Control

All raw materials used in the manufacture of Puritan Lim Broth Medium are tested and qualified before use. Each batch of medium is tested prior to release for bacterial or fungal contamination, medium pH, and ability to support growth of GBS and suppress gram-negative bacteria over predefined time periods. All bacterial test isolates and testing procedures were established using the criteria outlined in the Clinical and Laboratory Standards Institute's M22-A3 document and dehydrated media manufacturer recommendations where applicable.^{12, 13}

Control

Streptococcus agalactiae ATCC 12386
Escherichia coli ATCC 25922

Incubation

Aerobic, 18-24 hr @ 35-37°C
Aerobic, 18-24 hr @ 35-37°C

Results

Good growth
Inhibition (partial to complete)

Limitations

Definitive identification of GBS requires additional biochemical and/or serological tests. Refer to appropriate reference standards for further instructions.^{10, 11}

References

1. 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.
2. Jones, D.E., K.S. Kanarek, D.V. Lim. 1984. Group B streptococcal colonization patterns in mothers and their infants. *J Clin Microbiol.* 20:438-440.
3. Church, D.L, H. Baxter, T. Lloyd, B. Miller, S. Elsayed. 2008. Evaluation of StrepB Carrot Broth versus Lim Broth for detection of Group B streptococcus colonization status of near-term pregnant women. *J Clin Microbiol.* 46(8):2780-2782.
4. Schrag, S, R. Gorwitz, K. Fultz-Butts, A. Schuchat. 2002. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51:1-26.
5. Verani, J.R., L. McGee, S.J. Schrag. 2010. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 59:1-32.
6. Elsayed S., D.B. Gregson, D.L. Church. 2003. Comparison of direct selective versus nonselective agar media plus Lim Broth enrichment for determination of Group B streptococcus colonization status in pregnant women. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 127(6): 718-720.
7. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, D.W. Warnock. 2011. *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. American Society for Microbiology. Washington, DC.
8. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risk related exposure to biological agents at work. *Official Journal of the European Communities.* L 262/21-45.
9. Miller, J.M. 1996. *A guide to specimen management in clinical microbiology.* American Society for Microbiology. Washington, DC.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, A.S. Weissfeld. 2007. *Diagnostic Microbiology* 12th ed. Mosby. St. Louis, MO.
11. Murray, P.R., E.G. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, R.H. Tenover, R.M. Tenover. 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. CLSI. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard-Third Edition.* CLSI document M22-A3. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004.
13. Zimbro M.J, D.A. Power. 2003. *Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media.* Becton, Dickinson and Company. Sparks, MD.



207-876-3311 • puritanmedproducts.com
sales@puritanmedproducts.com
Puritan Medical Products Co.
31 School Street, Guilford, Maine 04443-0149 USA

Caldo Lim de Puritan® con colistina y ácido nalidíxico

Uso indicado

El medio de caldo Lim de Puritan® es un medio de caldo enriquecido selectivo para su uso en estreptococos del grupo B (GBS) de muestras clínicas.

Resumen y explicación

Los estreptococos del Grupo B (GBS) son la causa más habitual de infecciones tales como la septicemia, la meningitis y la neumonía entre los recién nacidos. La enfermedad se transmite al recién nacido durante el alumbramiento a través de la madre que es portadora de GBS en su recto o tracto genital. Aproximadamente un 7-20 % de las mujeres embarazadas presentan colonización de GBS en la vagina o en el recto.^{1, 2} Para reducir el riesgo de infección, los Centros para el control y la prevención de enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) y otras organizaciones han publicado pautas para la detección y prevención de enfermedades neonatales por GBS. Los CDC sugieren realizar hisopados vaginales y rectales con caldos enriquecidos selectivos para detectar la colonización sospechada con GBS de la mujer embarazada en base a cultivos entre las semanas 35 y 37 de gestación.³⁻⁶

El medio de caldo Lim de Puritan consiste en un vial con tapa a rosca de polipropileno que contiene 2 mL de medio enriquecido de caldo de Lim modificado. El medio de caldo de Lim modificado es un caldo enriquecido selectivo. Las peptonas, dextrosa y extracto de levadura proporcionan la base nutricional para el crecimiento de GBS. El ácido nalidíxico y la colistina suprimen el crecimiento de bacterias gram negativas.⁷

Principios del procedimiento

Una vez que la muestra se recolecta con un hisopo, se debe colocar en el vial que contiene el medio enriquecido con caldo de Lim e incubar aeróbicamente a 35-37°C durante 18 a 24 horas antes de ser subcultivado en una placa de agar con sangre.

Reactivos

Formulación aproximada por litro del medio enriquecido con caldo de Lim modificado

Peptona de caseína	10,0g	Peptona de carne	10,0g	Extracto de	10,0g
Infusión de corazón	3,1g	Cloruro de sodio	2,0g	Dextrosa	2,0g
Fosfato disódico	0,4g	Carbonato de sodio	2,5g	Sulfato de	10,0mg
Ácido nalidíxico	15,0mg				

pH óptimo 7,8 + 0,2 a 25°C

Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*

- Las muestras clínicas se consideran un riesgo biológico y se deben manipular de manera que se proteja al personal del laboratorio.
- Para ser utilizado por personal capacitado y calificado utilizando técnicas asépticas.
- Las muestras clínicas pueden contener patógenos humanos incluidos el virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Se deben seguir las pautas institucionales y las reconocidas universalmente cuando se manipulan artículos contaminados con sangre y otros fluidos humanos.⁸
- Los viales de muestras y otros materiales contaminados se deben esterilizar en autoclave antes de descartarlos.
- No utilizar si el vial está dañado o se detectan evidencias de contaminación, decoloración o pérdidas.

Almacenamiento

Para un desempeño óptimo, almacenar a 2-25°C. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento.^{7, 9}

Instrucciones de uso

- [1] Obtener muestras de hisopado de la parte distal de la vagina y la anorectal entre la semana 35-37 de gestación.
- [2] Inocular el medio de caldo de Lim con los hisopos.
- [3] Incubar el tubo aeróbicamente o en un 5 % de CO₂ a 35-37°C durante 18-24 horas.
- [4] Después de la incubación, subcultivar en medio enriquecido de caldo de Lim en una placa de agar con sangre e incubar aeróbicamente o en un 5 % de CO₂ a 35-37°C durante 18-24 horas.
- [5] [5] Controlar la placa de agar con sangre a las 24-48 horas para detectar colonias translúcidas grises, grandes con una pequeña zona de beta-hemólisis o nada de hemólisis.

- Si la distribución en placas se está realizando con un sistema automático de microbiología, consulte el manual de automatización. Asegúrese de retirar el hisopo del tubo y descartarlo antes de procesarlo.

Recolección y manipulación de muestras

Las muestras aptas para el cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener instrucciones detalladas, consulte las referencias correspondientes. 10, 11 Las muestras deben obtenerse antes de la administración de antibióticos.

Control de calidad

Todas las materias primas utilizadas en la fabricación del medio de caldo Lim de Puritan se prueban y califican antes de su uso. Antes de su aprobación, cada lote de medio se somete a pruebas para verificar la existencia de contaminación bacteriana o fúngica, el pH del medio y la capacidad de favorecer el crecimiento de GBS y suprimir las bacterias gramnegativas durante períodos de tiempo predefinidos. Todas las cepas bacterianas de prueba y los procedimientos de prueba se establecieron utilizando los criterios descritos en el documento M22-A3 del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio y las recomendaciones del fabricante de medios deshidratados, en su caso.12, 13

Control

Streptococcus agalactiae ATCC 12386
Escherichia coli ATCC 25922

Incubación

Aeróbica, 18-24 horas a 35-37° C
Aeróbica, 18-24 horas a 35-37° C

Resultados

Crecimiento adecuado
Inhibición (parcial a completa)

Limitaciones

Para la identificación definitiva de GBS es necesario realizar pruebas adicionales y/o análisis serológicos. Consulte los estándares de referencia apropiados para obtener más instrucciones. 10, 11

Bibliografía

1. 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.
2. Jones, D.E., K.S. Kanarek, D.V. Lim. 1984. Group B streptococcal colonization patterns in mothers and their infants. *J Clin Microbiol.* 20:438-440.
3. Church, D.L, H. Baxter, T. Lloyd, B. Miller, S. Elsayed. 2008. Evaluation of StrepB Carrot Broth versus Lim Broth for detection of Group B streptococcus colonization status of near-term pregnant women. *J Clin Microbiol.* 46(8):2780-2782.
4. Schrag, S, R. Gorwitz, K. Fultz-Butts, A. Schuchat. 2002. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51:1-26.
5. Verani, J.R., L. McGee, S.J. Schrag. 2010. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 59:1-32.
6. Elsayed S., D.B. Gregson, D.L. Church. 2003. Comparison of direct selective versus nonselective agar media plus Lim Broth enrichment for determination of Group B streptococcus colonization status in pregnant women. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 127(6): 718-720.
7. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, D.W. Warnock. 2011. *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. American Society for Microbiology. Washington, DC.
8. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risk related exposure to biological agents at work. *Official Journal of the European Communities.* L 262/21-45.
9. Miller, J.M. 1996. *A guide to specimen management in clinical microbiology.* American Society for Microbiology. Washington, DC.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahn, A.S. Weissfeld. 2007. *Diagnostic Microbiology* 12th ed. Mosby. St. Louis, MO.
11. Murray, P.R., E.G. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, R.H. Tenover, R.M. Tenover. 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. CLSI. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard-Third Edition.* CLSI document M22-A3. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004.
13. Zimbro M.J, D.A. Power. 2003. *Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media.* Becton, Dickinson and Company. Sparks, MD.



207-876-3311 o puritanmedproducts.com
sales@puritanmedproducts.com

Puritan Medical Products Co.
31 School Street, Guilford, Maine 04443-0149 USA



Bouillon Lim Puritan^{MD} avec de la colistine et de l'acide nalidixique

Utilisation prévue

Le milieu de bouillon Lim Puritan^{MD} est un milieu de bouillon d'enrichissement sélectif destiné à être utilisé dans des procédures qualitatives sélectives pour l'isolement du streptocoque du groupe B (SGB) à partir d'échantillons cliniques.

Résumé et explication

Le streptocoque du groupe B (SGB) est la cause la plus fréquente d'infections telles que la septicémie, la méningite et la pneumonie chez les nouveau-nés. La maladie est transmise aux nouveau-nés par la mère qui porte le SGB dans le rectum ou les voies génitales à la naissance. Environ 7 à 20 % des femmes enceintes sont colonisées par le SGB dans le vagin ou le rectum.^{1, 2} Pour réduire le risque d'infection, les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) et d'autres organisations ont publié des lignes directrices pour le dépistage et la prévention de la maladie SGB néonatale. Le CDC suggère d'utiliser des prélèvements vaginaux et rectaux avec des bouillons d'enrichissement sélectif pour détecter la colonisation par le SGB chez les femmes enceintes soupçonnées pour un dépistage à l'aide d'une culture entre 35 et 37 semaines de grossesse.³⁻⁶

Le milieu de bouillon Lim Puritan est constitué d'un flacon à bouchon vissé en polypropylène contenant 2 ml de milieu d'enrichissement de bouillon Lim modifié. Le milieu de bouillon Lim modifié est un bouillon d'enrichissement sélectif. Les peptones, le dextrose et l'extrait de levure fournissent une base nutritionnelle pour la croissance du SGB. L'acide nalidixique et la colistine inhibent la croissance des bactéries gram-négatives.⁷

Principes de la procédure

Une fois qu'un échantillon est prélevé avec un écouvillon, il doit être placé dans le flacon contenant le milieu d'enrichissement de bouillon Lim et incubé en aérobiose entre 35 et 37 °C (95 et 98,6 °F) pendant 18 à 24 heures avant d'être repiqué sur une gélose au sang.

Réactifs

Formule du milieu d'enrichissement de bouillon Lim modifié par litre

Peptone de caséine	10,0 g	Peptone de viande	10,0 g	Extrait de levure	10,0 g
Infusion de cœur	3,1g	Chlorure de sodium	2,0 g	Dextrose	2,0 g
Phosphate disodique	0,4 g	Carbonate de sodium	2,5 g	Sulfate de	10,0 m
Acide nalidixique	15,0 mg				

pH optimal 7,8 + 0,2 à 25 °C (77 °F)

Précautions

Pour utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.

- Les échantillons cliniques sont considérés comme présentant un risque biologique et doivent être manipulés de manière à protéger le personnel de laboratoire.
- À être utilisé par un personnel ayant reçu une formation et qualifié utilisant une technique aseptique.
- Les échantillons cliniques peuvent contenir des pathogènes humains, y compris le virus de l'hépatite et le virus de l'immunodéficience humaine. Les directives institutionnelles et universellement reconnues doivent être suivies lors de la manipulation d'articles contaminés par du sang et d'autres liquides organiques.⁸
- Les flacons d'échantillons et d'autres matériaux contaminés doivent être stérilisés à l'autoclave avant d'être jetés.
- Ne pas utiliser si le flacon est endommagé ou si une preuve de contamination, de décoloration ou de fuite est détectée.

Conservation

Pour des performances optimales, conserver entre 2 et 25 °C (36 et 77 °F). Ne pas congeler ni soumettre à une température excessive.^{7, 9}

Mode d'emploi

- [1] Obtenir des échantillons d'écouvillon vaginaux distaux et ano-rectaux entre 35 et 37 semaines de grossesse.
- [2] Inoculer le milieu de bouillon Lim à l'aide d'écouvillons.
- [3] Incuber le tube en aérobiose ou dans 5 % de CO₂ entre 35 et 37 °C (95 et 98,6 °F) pendant 18 à 24 heures.

- [4] Après incubation, repiquer le milieu d'enrichissement de bouillon Lim sur une plaque de gélose au sang non sélective et incubé en aérobic ou dans 5 % de CO entre 35 et 37 °C (95 et 98,6 °F) pendant 18 à 24 heures.
- [5] Vérifier la plaque de gélose au sang à 24-48 heures pour la présence de grandes colonies, grises, translucides avec une petite zone de bêta-hémolyse ou sans hémolyse.
- Si un système d'automatisation de microbiologie est utilisé, consulter le manuel d'automatisation. Veiller à retirer l'écouvillon du tube et à le jeter avant le traitement.

Prélèvement et manipulation des échantillons

Les échantillons adaptés à la culture peuvent être manipulés en utilisant diverses techniques. Pour des conseils détaillés, se reporter aux références appropriées. 10, 11 Des échantillons doivent être obtenus avant l'administration des agents antimicrobiens.

Contrôle de la qualité

Toutes les matières premières utilisées pour la fabrication du milieu de bouillon Lim Puritan ont été testées et homologuées avant utilisation. Chaque lot de milieu est testé avant sa libération pour détecter toute contamination bactérienne ou fongique, son pH et sa capacité à favoriser la croissance du SGB et à supprimer les bactéries Gram-négatives sur des périodes prédéfinies. Tous les isolats de tests bactériens et les procédures de test ont été établis en utilisant les critères décrits dans le document M22-A3 du Clinical and Laboratory Standards Institute et les recommandations du fabricant de milieux en poudre, le cas échéant. 12, 13

Contrôle

Streptococcus agalactiae ATCC 12386
Escherichia coli ATCC 25922

Incubation

Aérobic, 18 à 24 h à 35 à 37 °C (95 à 98,6 °F)
Aérobic, 18 à 24 h à 35 à 37 °C (95 à 98,6 °F)

Résultats

Bonne croissance
Inhibition (partielle à totale)

Limitations

L'identification définitive du SGB nécessite des tests biologiques et/ou sérologiques supplémentaires. Consulter les normes de référence appropriées pour d'autres instructions.^{10, 11}

Références bibliographiques

1. 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.
2. Jones, D.E., K.S. Kanarek, D.V. Lim. 1984. Group B streptococcal colonization patterns in mothers and their infants. *J Clin Microbiol.* 20:438-440.
3. Church, D.L., H. Baxter, T. Lloyd, B. Miller, S. Elsayed. 2008. Evaluation of StrepB Carrot Broth versus Lim Broth for detection of Group B streptococcus colonization status of near-term pregnant women. *J Clin Microbiol.* 46(8):2780-2782.
4. Schrag, S, R. Gorwitz, K. Fultz-Butts, A. Schuchat. 2002. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51:1-26.
5. Verani, J.R., L. McGee, S.J. Schrag. 2010. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 59:1-32.
6. Elsayed S., D.B. Gregson, D.L. Church. 2003. Comparison of direct selective versus nonselective agar media plus Lim Broth enrichment for determination of Group B streptococcus colonization status in pregnant women. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 127(6): 718-720.
7. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, D.W. Warnock. 2011. *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. American Society for Microbiology. Washington, DC.
8. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risk related exposure to biological agents at work. *Official Journal of the European Communities.* L 262/21-45.
9. Miller, J.M. 1996. *A guide to specimen management in clinical microbiology.* American Society for Microbiology. Washington, DC.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, A.S. Weissfeld. 2007. *Diagnostic Microbiology* 12th ed. Mosby. St. Louis, MO.
11. Murray, P.R., E.G. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, R.H. Tenover, R.M. Tenover. 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. CLSI. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard-Third Edition.* CLSI document M22-A3. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004.
13. Zimbro M.J., D.A. Power. 2003. *Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media.* Becton, Dickinson and Company. Sparks, MD.



207-876-3311 o puritanmedproducts.com
sales@puritanmedproducts.com

Puritan Medical Products Co.
31 School Street, Guilford, Maine 04443-0149 USA

Puritan® Lim Broth met colistine en nalidixinezuur

Beoogd gebruik

Het Puritan® Lim Broth-medium is een selectieve aanrijkbouillon voor het isoleren van Groep B streptokokken (GBS) uit klinische monsters.

Samenvatting en uitleg

Groep B streptokokken (GBS) zijn de meest voorkomende oorzaak van infecties zoals sepsis, meningitis en longontsteking bij pasgeborenen. De ziekte wordt overgedragen aan pasgeborenen via de moeder die tijdens de geboorte GBS in haar rectum of geboortekanaal draagt. Ongeveer 7-20% van de zwangere vrouwen heeft GBS in de vagina of het rectum.^{1, 2} Om het infectierisico te verlagen hebben de Centers for Disease Control and Prevention (CDC) en andere organisaties richtlijnen gepubliceerd voor screening en preventie van GBS-infectie bij pasgeborenen. De CDC adviseert vaginale en rectale uitstrijkjes te maken met selectieve aanrijkbouillons om GBS-colonisatie te detecteren bij de vermoedelijk aangetaste zwangere vrouwen voor kweekgebaseerde screening bij een zwangerschapsduur tussen 35 en 37 weken.³⁻⁶

Het Puritan Lim Broth-medium bestaat uit een polypropyleen buisje met schroefdop met 2 ml gemodificeerd Lim Broth-aanrijksmedium. Gemodificeerd Lim Broth-medium is een selectieve aanrijkbouillon. De peptonen, de dextrose en het gistextract leveren de voedingsbasis voor de groei van GBS. Nalidixinezuur en colistine onderdrukken de groei van gram-negatieve bacteriën.⁷

Principes van de procedure

Nadat een monster is genomen met een swab (wattenstaafje), moet deze in het buisje met Lim Broth-aanrijksmedium worden geplaatst en voorafgaan aan de subcultuur op een bloed-agarplaat gedurende 18 tot 24 uur aerobisch worden geïncubeerd bij 35-37 °C.

Reagentia

Gemodificeerde formule Lim Broth-aanrijksmedium per liter, bij benadering

Caseïnepepton	10,0 g	Vleespepton	10,0 g	Gistextract	10,0 g
Hartinfusie	3,1 g	Natriumchloride	2,0 g	Dextrose	2,0 g
Dinatriumfosfaat	0,4 g	Natriumcarbonaat	2,5 g	Colistinesulfaat	10,0 mg
Nalidixinezuur	15,0 mg				

Optimaal pH 7,8 + 0,2 @ 25 °C

Voorzorgsmaatregelen

Voor *in-vitro* diagnostisch gebruik

- Klinische monsters worden beschouwd als biologisch gevaarlijk materiaal en moeten zodanig worden gehanteerd dat het laboratoriumpersoneel wordt beschermd.
- Te gebruiken door opgeleid en gekwalificeerd personeel met gebruik van een aseptische techniek.
- Klinische monsters kunnen menselijke pathogenen bevatten, waaronder het hepatitisvirus en het humaan immunodeficiëntievirus. Institutioneel en universeel erkende richtlijnen moet worden gevolgd bij het hanteren van artikelen die zijn besmet met bloed en andere lichaamsvloeistoffen.⁸
- Monsterbuisjes en andere besmette materialen moeten in de autoclaaf worden gesteriliseerd voordat ze worden afgevoerd.
- Niet gebruiken als het buisje is beschadigd, of er aanwijzingen van besmetting, verkleuring of lekkage te zien zijn.

Opslag

Voor optimale werking opslaan bij 2-25 °C. Bevriezen en oververhitten vermijden.^{7, 9}

Gebruiksaanwijzing

- [1] Neem bij een zwangerschapsduur van 35-37 weken uitstrijkjes uit de distale vagina en het anorectum.
- [2] Inoculeer het Lim Broth-medium met swabs.
- [3] Incubeer het buisje aerobisch of in 5% CO₂ bij 35-37 °C gedurende 18-24 uur.
- [4] Maak na incubatie een subcultuur van het Lim Broth-aanrijksmedium op een niet-selectieve bloed-agarplaat en incubeer aerobisch of in 5% CO₂ bij 35-37 °C gedurende 18-24 uur.

[5] Controleer de bloed-agarplaat na 24-48 uur op grote, grijze, doorzichtige kolonies met een kleine zone hemolyse of geen hemolyse.

- Als een microbiologie-automaat wordt gebruikt om het op de plaat aan te brengen, raadpleegt u de handleiding van de automaat. Zorg dat u de swab vóór de verwerking uit het busje verwijdert en afvoert.

Monstername en hantering

Monsters die geschikt zijn om te worden gekweekt, kunnen op verschillende manieren worden gehanteerd. Ga voor gedetailleerde richtlijnen naar het juiste referentiemateriaal.^{10, 11} Monsters moeten worden genomen voordat antimicrobiële middelen worden toegediend.

Kwaliteitscontrole

Alle grondstoffen die worden gebruikt bij de vervaardiging van het Puritan Lim Broth medium worden vóór gebruik getest en gekwalificeerd. Elke batch van het medium wordt vóór vrijgave getest op bacteriële of schimmelbesmetting, de pH van het medium en het vermogen om de groei van GBS te ondersteunen en gramnegatieve bacteriën te onderdrukken gedurende vooraf gedefinieerde tijdsperiodes. Alle bacteriële testisolaten en testprocedures werden vastgesteld aan de hand van criteria uit het Clinical and Laboratory Standards Institute's M22-A3-document en, waar van toepassing, de aanbevelingen van de fabrikant van het gedehydrateerde medium.^{12, 13}

Controle

Streptococcus agalactiae ATCC 12386
Escherichia coli ATCC 25922

Incubatie

Aeroob, 18-24 uur bij 35-37 °C
Aeroob, 18-24 uur bij 35-37 °C

Resultaten

Goede groei
Remming (gedeeltelijk tot volledig)

Beperkingen

Voor de definitieve identificatie van GBS zijn aanvullende biochemische en/of serologische tests vereist. Raadpleeg de juiste referentienormen voor meer instructies.^{10, 11}

Literatuurverwijzingen

1. 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.
2. Jones, D.E., K.S. Kanarek, D.V. Lim. 1984. Group B streptococcal colonization patterns in mothers and their infants. *J Clin Microbiol.* 20:438-440.
3. Church, D.L., H. Baxter, T. Lloyd, B. Miller, S. Elsayed. 2008. Evaluation of StrepB Carrot Broth versus Lim Broth for detection of Group B streptococcus colonization status of near-term pregnant women. *J Clin Microbiol.* 46(8):2780-2782.
4. Schrag, S, R. Gorwitz, K. Fultz-Butts, A. Schuchat. 2002. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51:1-26.
5. Verani, J.R., L. McGee, S.J. Schrag. 2010. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 59:1-32.
6. Elsayed S., D.B. Gregson, D.L. Church. 2003. Comparison of direct selective versus nonselective agar media plus Lim Broth enrichment for determination of Group B streptococcus colonization status in pregnant women. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 127(6): 718-720.
7. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, D.W. Warnock. 2011. *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. American Society for Microbiology. Washington, DC.
8. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risk related exposure to biological agents at work. *Official Journal of the European Communities.* L 262/21-45.
9. Miller, J.M. 1996. *A guide to specimen management in clinical microbiology.* American Society for Microbiology. Washington, DC.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, A.S. Weissfeld. 2007. *Diagnostic Microbiology* 12th ed. Mosby. St. Louis, MO.
11. Murray, P.R., E.G. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, R.H. Tenover, R. Tenover. 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. CLSI. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard-Third Edition.* CLSI document M22-A3. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004.
13. Zimbro M.J., D.A. Power. 2003. *Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media.* Becton, Dickinson and Company. Sparks, MD.



207-876-3311 o puritanmedproducts.com
sales@puritanmedproducts.com

Puritan Medical Products Co.
31 School Street, Guilford, Maine 04443- 0149 USA

Puritan® Lim-Bouillon mit Colistin und Nalidixinsäure

Verwendungszweck

Das Puritan® Lim-Bouillon Medium ist ein selektives Anreicherungsbouillonmedium zur Verwendung bei selektiven qualitativen Verfahren zur Isolierung von Streptokokken der Serogruppe B (GBS) in klinischen Proben.

Zusammenfassung und Erklärung

Streptokokken der Serogruppe B (GBS) sind die häufigste Ursache für Infektionen in Neugeborenen wie Sepsis, Meningitis und Pneumonie. Die Erkrankung wird während der Geburt von der Mutter, die die GBS in ihrem Rektum oder Genitaltrakt trägt, an das Neugeborene übertragen. Etwa 7-20 % der Schwangeren tragen GBS in der Vagina oder im Rektum.^{1,2} Um das Infektionsrisiko zu reduzieren, haben die Centers for Disease Control and Prevention (CDC) und andere Organisationen Richtlinien für das Screening und die Verhinderung einer neonatalen GBS-Infektion veröffentlicht. Die CDC empfiehlt den Einsatz von vaginalen und rektalen Abstrichen mit selektiver Anreicherungsbouillon zur Feststellung einer GBS-Besiedlung der Schwangeren, um ein kulturbasiertes Screening während der 35. und 37. Schwangerschaftswoche durchzuführen.³⁻⁶

Puritan Lim-Bouillon Medium besteht aus einem Röhrchen mit Polypropylen-Schraubverschluss mit 2 ml modifiziertem Lim-Bouillon Anreicherungsmedium. Das modifizierte Lim-Bouillon Medium ist eine selektive Anreicherungsbouillon. Peptone, Dextrose und Hefeextrakt stellen die Nährbasis für das Wachstum der GBS bereit. Nalidixinsäure und Colistin hemmen das Wachstum gramnegativer Bakterien.⁷

Grundlagen des Verfahrens

Nachdem eine Probe mit einem Abstrichapplikator gewonnen wurde, wird dieser in das Röhrchen mit dem Lim-Bouillon Anreicherungsmedium platziert und bei 35-37 °C 18 bis 24 Stunden lang aerobisch inkubiert bevor eine Subkultur auf einer Blutagarplatte stattfinden kann.

Reagenzien

Ungefähre Mengenangaben für die Formulierung des modifizierten Lim-Bouillon Anreicherungsmediums pro Liter

Caseinpepton	10,0 g	Fleischpepton	10,0 g	Hefeextrakt	10,0 g
Herz-Infusion	3,1 g	Natriumchlorid	2,0 g	Dextrose	2,0 g
Dinatriumphosphat	0,4 g	Natriumcarbonat	2,5 g	Colistinsulfat	10,0
Nalidixinsäure	15,0 mg				

Optimaler pH-Wert 7,8 + 0,2 bei 25 °C

Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In vitro*-Diagnostik

- Klinische Proben sind als biogefährdend anzusehen und müssen auf eine Art und Weise gehandhabt werden, durch welche das Laborpersonal geschützt wird.
- Zur Verwendung durch geschultes und qualifiziertes Personal unter Einsatz aseptischer Methoden.
- Klinische Proben können Humanpathogene wie Hepatitis und den Humanen Immunschwäche-Virus enthalten. Institutionelle und allgemein anerkannte Richtlinien sind bei der Handhabung von Gegenständen zu befolgen, die mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminiert sind.⁸
- Probenröhrchen und sonstige kontaminierte Materialien müssen vor der Entsorgung durch Autoklavierung sterilisiert werden.
- Nicht verwenden, wenn das Röhrchen beschädigt ist oder eine Kontaminierung, Verfärbung oder ein Auslaufen festgestellt wurde.

LAGERUNG

Für optimale Leistung bei 2–25 °C lagern. Einfrieren oder Überhitzen vermeiden.^{7,9}

Gebrauchsanweisung

- [1] Abstrichproben aus dem distalen Vaginaltrakt und Anorektum während der 35. - 37. Schwangerschaftswoche entnehmen.
- [2] Lim-Bouillon Medium mit den Abstrichstäbchen inokkulieren.
- [3] Röhrchen aerobisch oder in 5 % CO₂ bei 35-37 °C 18-24 Stunden lang inkubieren.
- [4] Nach der Inkubation eine Subkultur des Lim-Bouillon Anreicherungsmediums auf einer nicht selektiven Blutagarplatte anfertigen und aerobisch oder in 5 % CO₂ bei 35-37 °C 18-24 Stunden lang inkubieren.

[5] Nach 24-48 Stunden die Blutagarplatte auf große, graue, transluzente Kolonien mit einem kleinen Bereich einer Beta-Hämolyse oder keiner Hämolyse überprüfen.

- Bei der Verwendung eines mikrobiologischen Automatisierungssystems sind die Hinweise im Automatisierungshandbuch zu befolgen. Vor der Verarbeitung muss der Abstrichapplikator aus dem Röhrchen entnommen und entsorgt werden.

Probenentnahme und Handhabung

Zur Anzucht geeignete Proben können unter Einsatz verschiedener Methoden gehandhabt werden. Einzelheiten sind in den betreffenden Referenzmaterialien zu finden.^{10, 11} Die Proben sind vor der Verabreichung von antimikrobiellen Mitteln zu entnehmen.

Qualitätskontrolle

Alle zur Herstellung des Puritan Lim-Bouillon Medium verwendeten Rohstoffe werden vor ihrer Verwendung getestet und qualifiziert. Jede Charge des Mediums wird vor der Freigabe auf bakterielle oder pilzliche Kontamination, den pH-Wert des Mediums und die Fähigkeit, das Wachstum von GBS zu fördern und gramnegative Bakterien über vordefinierte Zeiträume zu hemmen, getestet. Alle bakteriellen Testisolate und Testverfahren wurden anhand der im Dokument M22-A3 des Clinical and Laboratory Standards Institute dargelegten Kriterien und gegebenenfalls anhand der Empfehlungen der Hersteller von Trocknungsmedien festgelegt.^{12, 13}

Kontrolle

Streptococcus agalactiae ATCC 12386
Escherichia coli ATCC 25922

Inkubation

Aerob, 18-24 h bei 35-37 °C
Aerob, 18-24 h bei 35-37 °C

Ergebnisse

Gutes Wachstum
Hemmung (teilweise bis vollständig)

Einschränkungen

Für die definitive Identifikation von GBS sind zusätzliche biochemische und/oder serologische Tests notwendig. Weitere Hinweise sind den zutreffenden Referenzstandards zu entnehmen.^{10, 11}

Literatur

1. 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.
2. Jones, D.E., K.S. Kanarek, D.V. Lim. 1984. Group B streptococcal colonization patterns in mothers and their infants. *J Clin Microbiol.* 20:438-440.
3. Church, D.L, H. Baxter, T. Lloyd, B. Miller, S. Elsayed. 2008. Evaluation of StrepB Carrot Broth versus Lim Broth for detection of Group B streptococcus colonization status of near-term pregnant women. *J Clin Microbiol.* 46(8):2780-2782.
4. Schrag, S, R. Gorwitz, K. Fultz-Butts, A. Schuchat. 2002. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51:1-26.
5. Verani, J.R., L. McGee, S.J. Schrag. 2010. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 59:1-32.
6. Elsayed S., D.B. Gregson, D.L. Church. 2003. Comparison of direct selective versus nonselective agar media plus Lim Broth enrichment for determination of Group B streptococcus colonization status in pregnant women. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 127(6): 718-720.
7. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, D.W. Tenover, W. Tenover. 2011. *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. American Society for Microbiology. Washington, DC.
8. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risk related exposure to biological agents at work. *Official Journal of the European Communities.* L 262/21-45.
9. Miller, J.M. 1996. *A guide to specimen management in clinical microbiology.* American Society for Microbiology. Washington, DC.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, A.S. Weissfeld. 2007. *Diagnostic Microbiology* 12th ed. Mosby. St. Louis, MO.
11. Murray, P.R., E.G. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, R.H. Tenover, R. Tenover. 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. CLSI. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard-Third Edition.* CLSI document M22-A3. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004.
13. Zimbro M.J, D.A. Power. 2003. *Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media.* Becton, Dickinson and Company. Sparks, MD.



207-876-3311 o puritanmedproducts.com
sales@puritanmedproducts.com

Puritan Medical Products Co.
31 School Street, Guilford, Maine 04443- 0149 USA

Puritan® Lim Broth con colistina e acido nalidixico

Uso previsto

Il terreno Puritan® Lim Broth è un brodo di arricchimento selettivo formulato per l'uso in procedure qualitative selettive volte all'isolamento dello streptococco del gruppo B (GBS) dai campioni clinici.

Sommario e spiegazione

Lo streptococco del gruppo B (GBS) è la causa più frequente di infezioni come la sepsi, la meningite e la polmonite nei neonati. La malattia viene trasmessa al neonato durante il parto, dalla madre portatrice del GBS nel retto o nella mucosa genitale. Il 7-20% circa delle donne gravide presentano colonizzazione da GBS nella vagina o nel retto.^{1,2} Per ridurre il rischio di infezione, i Centers for Disease Control and Prevention (CDC) degli Stati Uniti e altre organizzazioni hanno pubblicato linee guida per lo screening e la prevenzione della malattia da GBS nei neonati. I CDC suggeriscono di utilizzare tamponi vaginali e rettali con brodi di arricchimento selettivi per individuare la colonizzazione da GBS nelle donne gravide portatrici sospette, per lo screening mediante coltura tra la trentacinquesima e la trentasettesima settimana di gestazione.³⁻⁶

Il terreno Puritan Lim Broth consiste in un flacone in polipropilene con tappo a vite contenente 2 mL di terreno di arricchimento Lim Broth modificato. Il terreno Lim Broth modificato è un brodo di arricchimento selettivo. I peptoni, il destrosio e l'estratto di lievito costituiscono la base nutritiva per la crescita di GBS. L'acido nalidixico e la colistina inibiscono la crescita dei batteri gram-negativi.⁷

Principi della procedura

Dopo che il campione viene raccolto con un tampone, deve essere introdotto nel flacone contenente il terreno di arricchimento Lim Broth e incubato aerobicamente a 35-37 °C per 18-24 ore prima di essere posto in sottocoltura su una piastra di agar sangue.

Reagenti

Formulazione approssimativa di terreno di arricchimento Lim Broth modificato, al litro

Peptone di caseina	10,0 g	Peptone di carne	10,0 g	Estratto di lievito	10,0 g
Infusione di cuore	3,1 g	Cloruro di sodio	2,0 g	Destrosio	2,0 g
Fosfato disodico	0,4 g	Carbonato di sodio	2,5 g	Colistina solfato	10,0
Acido nalidixico	15,0 mg				

Ph ottimale 7,8 + 0,2 a 25 °C

Precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*

- I campioni clinici sono considerati biopericolosi e devono essere maneggiati in modo tale da proteggere il personale di laboratorio.
- Il prodotto deve essere usato da personale addestrato e qualificato, adottando tecniche asettiche.
- I campioni clinici possono contenere patogeni umani, incluso il virus dell'epatite e il virus dell'immunodeficienza umana. Seguire le linee guida vigenti in sede istituzionale e universalmente riconosciute per maneggiare i prodotti contaminati con sangue e altri liquidi biologici.⁸
- I flaconi usati per i campioni e altri materiali contaminati devono essere sterilizzati in autoclave prima di essere smaltiti.
- Non utilizzare il prodotto se il flacone è danneggiato o se si rileva la presenza di contaminazione, scolorimento o perdite.

Conservazione

Per ottenere prestazioni ottimali, conservare a 2-25 °C. Non congelare o surriscaldare il prodotto.^{7,9}

Istruzioni per l'uso

- [1] Ottenere campioni su tampone dalla parte distale della vagina e dall'ano-retto nelle settimane 35-37 di gestazione.
- [2] Inoculare il terreno Lim Broth con i tamponi.
- [3] Incubare la provetta aerobicamente o in 5% di CO₂ a 35-37 °C per 18-24 ore.
- [4] Dopo l'incubazione, porre in sottocolture il terreno di arricchimento Lim Broth su una piastra di agar sangue non selettivo e incubare aerobicamente o in 5% di CO a 35-37 °C per 18-24 ore.

[5] Controllare la piastra di agar sangue dopo 24-48 ore per rilevare la presenza di grandi colonie grigie traslucide, con una piccola zona di beta-emolisi o assenza di emolisi.

- Se si effettua l'isolamento in piastra con un sistema automatizzato di microbiologia, fare riferimento al manuale del sistema. Assicurarsi di rimuovere il tampone dalla provetta e di gettarlo prima del trattamento.

Raccolta e trattamento dei campioni

I campioni idonei per la coltura possono essere gestiti con varie tecniche. Per istruzioni dettagliate, consultare i riferimenti appropriati.^{10, 11} I campioni devono essere raccolti prima della somministrazione di agenti antimicrobici.

Controllo di qualità

Tutte le materie prime utilizzate per la produzione del Puritan Lim Broth Medium sono testate e controllate prima dell'uso. Ciascun lotto di terreno viene testato prima della commercializzazione per la ricerca di eventuali contaminazioni batteriche o micotiche, per determinare il pH medio e verificare la capacità di favorire la crescita di GBS e sopprimere i batteri gram-negativi nell'arco di periodi di tempo predefiniti. Tutti gli isolati di test batterici e le procedure di test sono stati stabiliti utilizzando criteri specificati nel documento M40-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute e le raccomandazioni del fabbricante di terreni disidratati, ove applicabili.^{12, 13}

Controllo

Streptococcus agalactiae ATCC 12386
Escherichia coli ATCC 25922

Incubazione

Aerobica, 18-24 h a 35-37 °C
Aerobica, 18-24 h a 35-37 °C

Risultati

Buona crescita
Inibizione (da parziale a completa)

Limitazioni

L'identificazione definitiva di GBS richiede l'esecuzione di ulteriori analisi biochimiche e/o test sierologici. Per ulteriori istruzioni, fare riferimento agli standard di riferimento appropriati.^{10, 11}

Bibliografia

1. 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.
2. Jones, D.E., K.S. Kanarek, D.V. Lim. 1984. Group B streptococcal colonization patterns in mothers and their infants. *J Clin Microbiol.* 20:438-440.
3. Church, D.L., H. Baxter, T. Lloyd, B. Miller, S. Elsayed. 2008. Evaluation of StrepB Carrot Broth versus Lim Broth for detection of Group B streptococcus colonization status of near-term pregnant women. *J Clin Microbiol.* 46(8):2780-2782.
4. Schrag, S, R. Gorwitz, K. Fultz-Butts, A. Schuchat. 2002. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51:1-26.
5. Verani, J.R., L. McGee, S.J. Schrag. 2010. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 59:1-32.
6. Elsayed S., D.B. Gregson, D.L. Church. 2003. Comparison of direct selective versus nonselective agar media plus Lim Broth enrichment for determination of Group B streptococcus colonization status in pregnant women. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 127(6): 718-720.
7. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, D.W. Warnock. 2011. *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. American Society for Microbiology. Washington, DC.
8. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risk related exposure to biological agents at work. *Official Journal of the European Communities.* L 262/21-45.
9. Miller, J.M. 1996. *A guide to specimen management in clinical microbiology.* American Society for Microbiology. Washington, DC.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahn, A.S. Weissfeld. 2007. *Diagnostic Microbiology* 12th ed. Mosby. St. Louis, MO.
11. Murray, P.R., E.G. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, R.H. Tenover, R.M. Tenover. 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. CLSI. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard-Third Edition.* CLSI document M22-A3. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004.
13. Zimbro M.J., D.A. Power. 2003. *Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media.* Becton, Dickinson and Company. Sparks, MD.



207-876-3311 o puritanmedproducts.com
sales@puritanmedproducts.com

Puritan Medical Products Co.
31 School Street, Guilford, Maine 04443-0149 USA

Puritan® Lim buljong med kolistin och naldixinsyra

Avsedd användning

Puritan® Lim buljongmedium är ett selektivt buljongmedium för användning i selektiva kvalitativa procedurer för isolering av grupp B-streptokocker (GBS) från kliniska prover.

Sammanfattning och förklaring

Grupp B-streptokocker (GBS) är den vanligaste orsaken till infektioner som sepsis, hjärnhinneinflammation och lunginflammation bland nyfödda. Sjukdomen överförs till nyfödda genom modern som bär på GBS i ändtarmen eller könsorganen under födseln. Cirka 7-20 % av gravida kvinnor koloniserar med GBS i slidan eller ändtarmen.^{1,2} För att minska risken för infektion har Centers for Disease Control and Prevention (CDC) och andra organisationer publicerat riktlinjer för screening och förebyggande av neonatal GBS-sjukdom. CDC föreslår att du använder vaginala och rektala svabbpinnar med selektiva anrikningsbuljonger för att upptäcka GBS-kolonisering från de misstänkt gravida kvinnorna för odlingsbaserad screening mellan 35 och 37 veckors graviditet.³⁻⁶

Puritan Lim buljongmedium består av en flaska med skruvkapsyl av polypropen som innehåller 2 ml modifierat Lim buljonganrikningsmedium. Modifierat Lim buljongmedium är en selektiv anrikningsbuljong. Peptonerna, dextros och jästextraktet ger näringsbas för tillväxt av GBS. Nalidixinsyra och kolistin hämmar tillväxten av gramnegativa bakterier.⁷

Principer för proceduren

När ett prov har tagits med en vattpinne ska det placeras i flaskan som innehåller Lim buljonganrikningsmedium och inkuberas aerobt vid 35-37 °C i 18 till 24 timmar innan det subkultiveras på en blodagarplatta.

Reagenser

Ungefärlig modifierad Lim buljonganrikningsmediumformulering per liter

Kasein Pepton	10,0g	Kött Pepton	10,0g	Jästextrakt	10,0g
Hjärtinfusion	3,1g	Natriumklorid	2,0g	Dextros –	2,0g
Dinatriumfosfat	0,4g	Natriumkarbonat	2,5g	Kolistinsulfat	10,0mg
Nalidixinsyra	15,0mg				

Optimal pH 7,8 + 0,2 @ 25 °C

Försiktighetsåtgärder

För *in vitro*-diagnostisk användning

- Kliniska prover anses vara biologiskt farliga och måste hanteras på ett sätt som skyddar laboratoriepersonal
- Används av utbildad och kvalificerad personal som använder aseptisk teknik
- Kliniska prover kan innehålla mänskliga patogener inklusive hepatitvirus och humant immunbristvirus. Institutionella och universellt erkända riktlinjer ska följas vid hantering av föremål som är kontaminerade med blod och andra kroppsvätskor.⁸
- Provflaskor och annat kontaminerat material måste steriliseras i autoklav innan de kasseras.
- Använd inte om flaskan är skadad eller om det upptäcks tecken på kontaminering, missfärgning eller läckage.

Förvaring

För bästa prestanda, förvara vid 2-25°C. Undvik frysning och överhettning.^{7,9}

Bruksanvisning

- [1] Ta vattpinneprover från distal vagina och anorektum mellan 35-37 veckors graviditet.
- [2] Ympa Lim buljongmedium med vattpinnar.
- [3] Inkubera röret aerobt eller i 5 % CO₂ vid 35-37 °C i 18-24 timmar.
- [4] Efter inkubation, subkultivera Lim buljonganrikningsmedium till en icke-selektiv blodagarplatta och inkubera aerobt eller i 5 % CO₂ vid 35-37 °C i 18-24 timmar.
- [5] Kontrollera blodagarplattan efter 24-48 timmar för stora, gråa, genomskinliga kolonier med en liten zon av beta-hemolys eller ingen hemolys.
 - Vid plättering med ett mikrobiologiskt automationssystem, se automationsmanualen. Se till att ta bort vattpinne från röret och kassera innan bearbetning.

Provinsamling och -hantering

Prover som är lämpliga för odling kan hanteras med olika tekniker. För detaljerad vägledning, se lämpliga referenser.^{10, 11}

Prover ska tas innan antimikrobiella medel har administrerats.

Kvalitetskontroll

Alla råvaror som används vid tillverkningen av Puritan Lim buljongmedium testas och kvalificeras före användning. Varje sats medium testas före frisättning avseende bakteriell eller svampkontamination, pH på mediet och förmåga att stödja tillväxt av GBS och undertrycka gramnegativa bakterier under fördefinierade tidsperioder. Alla bakterietestisolat och testförfaranden fastställdes enligt kriterierna i Clinical and Laboratory Standards dokument M22-A3 och rekommendationer från tillverkare av dehydrerad media var tillämpliga.^{12, 13}

Kontroll

Streptococcus agalactiae ATCC 12386

Escherichia coli ATCC 25922

Inkubation

Aerobisk, 18-24 timmar @ 35-37 °C

Aerobisk, 18-24 timmar @ 35-37 °C

Resultat

God tillväxt

Inhibering (delvis till komplett)

Begränsningar

Definitiv identifiering av GBS kräver ytterligare biokemiska och/eller serologiska tester. Se lämpliga referensstandarder för ytterligare instruktioner.^{10, 11}

Referenser

1. 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.
2. Jones, D.E., K.S. Kanarek, D.V. Lim. 1984. Group B streptococcal colonization patterns in mothers and their infants. *J Clin Microbiol.* 20:438-440.
3. Church, D.L, H. Baxter, T. Lloyd, B. Miller, S. Elsayed. 2008. Evaluation of StrepB Carrot Broth verses Lim Broth for detection of Group B streptococcus colonization status of near-term pregnant women. *J Clin Microbiol.* 46(8):2780-2782.
4. Schrag, S, R. Gorwitz, K. Fultz-Butts, A. Schuchat. 2002. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbid Mortal Weekly Rep* 51:1-26.
5. Verani, J.R., L. McGee, S.J. Schrag. 2010. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Morbid Mortal Weekly Rep.* 59:1-32.
6. Elsayed S., D.B. Gregson, D.L. Church. 2003. Comparison of direct selective versus nonselective agar media plus Lim Broth enrichment for determination of Group B streptococcus colonization status in pregnant women. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 127(6): 718-720.
7. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, D.W. Warnock. 2011. *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. American Society for Microbiology. Washington, DC.
8. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risk related exposure to biological agents at work. *Official Journal of the European Communities.* L 262/21-45.
9. Miller, J.M. 1996. *A guide to specimen management in clinical microbiology.* American Society for Microbiology. Washington, DC.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, A.S. Weissfeld. 2007. *Diagnostic Microbiology* 12th ed. Mosby. St. Louis, MO.
11. Murray, P.R., E.G. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, R.H. Tenover, R.M. Tenover. 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. CLSI. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard-Third Edition.* CLSI document M22-A3. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004.
13. Zimbro M.J, D.A. Power. 2003. *Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media.* Becton, Dickinson and Company. Sparks, MD.



207-876-3311 • puritanmedproducts.com

sales@puritanmedproducts.com

Puritan Medical Products Co.
31 School Street, Guilford, Maine 04443-0149 USA