

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Le Lim Broth (bouillon de Lim) sert à l'enrichissement sélectif des streptocoques du groupe B (*Streptococcus agalactiae*).

II MODE OPERATOIRE DU TEST DE PERFORMANCE

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. A l'aide de pipettes stériles de 1,0 mL, ensemencer des tubes avec 1,0 mL de dilutions de cultures en bouillon de soja **Trypticase** Soy Broth âgées de 18 à 24 h. La dilution utilisée doit contenir au maximum 1 000 UFC/mL pour *S. agalactiae* et 1×10^5 UFC/mL pour *E. coli*.
 - b. Incuber les tubes, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie.
2. Examiner les tubes pour déceler une croissance éventuelle jusqu'à 3 jours.
3. Résultats attendus

Microorganismes	ATCC	Récupération
* <i>Streptococcus agalactiae</i>	12386	Croissance (modérée à importante)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibition (partielle à totale)

*Souche de microorganisme recommandée pour le contrôle de qualité par l'utilisateur.

REMARQUE : Ce milieu n'est pas soumis aux tests de Contrôle Qualité par l'utilisateur selon CLSI M22-A3.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des tubes représentatifs pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Mesurer le pH par potentiométrie à température ambiante et s'assurer qu'il est conforme à la spécification de $7,8 \pm 0,2$.
4. Incuber des tubes représentatifs non ensemencés entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C, et les examiner après 7 jours pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

Le Lim Broth sert à l'enrichissement sélectif des streptocoques du groupe B (*Streptococcus agalactiae*), en particulier à partir des échantillons prélevés dans les voies génitales.

V RESUME ET EXPLICATION

Depuis leur émergence dans les années 1970, les infections néonatales à streptocoques du groupe B sont devenues la principale cause de maladie et de décès d'origine infectieuse chez les nouveau-nés. Avant 1994, on comptait aux Etats-Unis environ 7 600 cas par an de maladies invasives à streptocoques du groupe B, principalement sepsie et méningite, chez les nouveau-nés et, dans 80 % des cas environ, une maladie d'apparition précoce dans la semaine suivant la naissance.¹ L'infection est transmise verticalement au nouveau-né par la mère porteuse de streptocoques du groupe B dans les voies ano-rectales ou génitales. Lim *et al.* ont eu l'idée d'associer un bouillon sélectif enrichi au test de co-agglutination sur lame afin de dépister rapidement l'infection chez la femme enceinte.²⁻⁵

Le CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) a élaboré des directives pour le dépistage et l'utilisation d'une chimioprophylaxie avant terme pour la prévention des maladies néonatales à streptocoques du groupe B.⁶ L'utilisation de bouillon de Todd Hewitt avec colistine et acide nalidixique est recommandée pour maximiser la probabilité de mise en évidence des streptocoques du groupe B après étalement sur gélose au sang de mouton.¹ Le Lim Broth est préparé par addition de colistine et d'acide nalidixique, aux concentrations recommandées, à du bouillon de Todd Hewitt, ainsi que d'extrait de levure pour favoriser la croissance des streptocoques du groupe B.²

Des streptocoques du groupe B ont également été décrits dans des cas de sepsie chez la femme en dehors de l'accouchement et chez l'homme, ainsi que dans les cas d'infection articulaire, d'ostéomyélite, d'infection des voies urinaires et de plaies infectées. Ils sont associés à l'endocardite, la pneumonie et à des infections cutanées et des muqueuses chez les patients compromis.⁷

VI PRINCIPES DE LA METHODE

La base de bouillon de Todd Hewitt est un milieu polyvalent servant principalement à la culture des streptocoques bêta-hémolytiques, notamment pour les études sérologiques.⁸

Les peptones, le dextrose et les sels constituent une excellente base nutritive pour la culture des streptocoques. L'extrait de levure ajouté est riche en complexe vitaminique B. Le dextrose stimule la production d'hémolysine. Le pouvoir tampon du phosphate disodique et du carbonate de sodium s'oppose à l'acidité résultant de la fermentation de l'hydrate de carbone, évitant ainsi une inactivation acide de l'hémolysine. L'acide nalidixique et la colistine inhibent la croissance des bactéries à Gram négatif.

VII REACTIFS

Lim Broth

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Infusion de cœur (matières solides)	3,1	g
Peptone.....	20,0	g
Dextrose.....	2,0	g
Chlorure de sodium.....	2,0	g
Phosphate disodique	0,4	g
Carbonate de sodium	2,5	g
Extrait de levure	10,0	g
Colistine	0,01	g
Acide nalidixique	0,015	g

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

Avertissements et précautions : Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »⁹⁻¹² et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les tubes préparés, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation : Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité, à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Maintenir à l'abri de la lumière. Conservés comme indiqué sur l'étiquette, les milieux en tube peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption et incubés pendant les durées d'incubation recommandées. Laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante avant de l'ensemencer.

Détérioration du produit : Ne pas utiliser les tubes s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons adaptés à la culture peuvent être préparés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{7,13} Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX METHODE

Matériaux fournis : Lim Broth

Matériaux requis mais non fournis : Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test : Respecter les techniques d'asepsie.

Incuber les tubes, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie enrichie ou non en dioxyde de carbone. Le cas échéant, effectuer un test de co-agglutination sur lame pour les streptocoques du groupe B après 5 h d'incubation.⁴

Si le milieu est trouble après 18 à 24 h, repiquer la culture en bouillon sur une boîte de gélose au sang de mouton ; sinon, incuber encore 24 h avant de conclure à un résultat négatif.¹

Contrôle de qualité par l'utilisateur : Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

Une seule électrode d'une taille suffisamment petite pour pénétrer dans les tubes devrait être utilisée pour déterminer potentiométriquement le pH des milieux en tubes. L'extrémité de l'électrode devrait arriver sous la surface du bouillon.

X RESULTATS

La croissance en milieu à base de bouillon est mise en évidence par l'apparition d'une turbidité comparativement au milieu de contrôle non ensemencé.

Repiquer sur **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II) et incuber pendant 18 à 24 h, ou jusqu'à 48 h si nécessaire. Identifier les microorganismes évocateurs de streptocoques du groupe B (bêta-hémolytiques ou non hémolytiques, cocci à Gram positif et négatifs pour la catalase). Une identification spécifique peut être effectuée ; p. ex., par sérogroupage des streptocoques, test de CAMP ou par d'autres méthodes.

Jones et al. sont parvenus à détecter des streptocoques du groupe B par co-agglutination sur lame après 5 h d'incubation pour une concentration de microorganismes dans la culture supérieure ou égale à 10⁷ par mL.⁴

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Pour procéder à l'identification, les microorganismes doivent se trouver en culture pure. L'identification définitive nécessite des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.^{7,13,14}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Nguyen et al. ont utilisé le Lim Broth conjointement avec la **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA) comme milieu de référence pour la détection de *Streptococcus* du groupe B à partir de prélèvements dans les voies génitales inférieures de la femme enceinte. Sur 524 échantillons prélevés chez la femme, 90 étaient positifs en culture sur Lim Broth ou TSA. La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative du Lim Broth étaient de 97 % (87/90), 100 % (434/434), 100 % (87/87) et 97 % (434/437), respectivement.¹⁵

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
292209	BD BBL Lim Broth, 5 mL, coffret de 10 tubes de taille K
296266	BD BBL Lim Broth, 5 mL, carton de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES

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.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site 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.