



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Le Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid sert à l'enrichissement sélectif des streptocoques du groupe B (*Streptococcus agalactiae*).

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. A l'aide de pipettes stérile de 1,0 mL, ensemercer 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 1000 UFC/mL pour *S. agalactiae* et $1,0 \times 10^5$ 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

**Streptococcus agalactiae*. Croissance

ATCC 12386

**Escherichia coli*.....Aucune croissance

ATCC 25922

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

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 $7,8 \pm 0,3$.
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 Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid (bouillon de Todd Hewitt avec gentamicine et acide nalidixique) 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 chaque année aux Etats-Unis environ 7600 cas 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.

Le CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) a mis au point des recommandations pour le dépistage et l'utilisation d'une chimioprophylaxie avant terme pour la prévention des maladies néonatales à streptocoques du groupe B.² L'utilisation du Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid (ou Lim Broth) est recommandée pour maximiser la probabilité de mise en évidence des streptocoques du groupe B après étalement sur gélose au sang de mouton.^{2,3}

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.⁴

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Le Todd Hewitt Broth est un milieu polyvalent servant principalement à la culture des streptocoques bêta-hémolytiques, notamment pour les études sérologiques.^{5,6} Ce milieu est hautement nutritif en raison de son contenu en peptones, dextrose et sels. Le dextrose stimule la production d'hémolysine. Le pouvoir tampon du phosphate de sodium et du carbonate de sodium s'oppose à l'acidité résultant de la fermentation du dextrose, évitant ainsi une inactivation acide de l'hémolysine.⁷

La sélectivité pour les streptocoques du groupe B résulte de l'incorporation de gentamicine et d'acide nalidixique dans le milieu. Les bouillons d'enrichissement sélectifs combinent les avantages de l'enrichissement et de la sélection en offrant des conditions favorables à la croissance des streptocoques du groupe B tout en inhibant celles des flores contaminantes.

VII REACTIFS

Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Infusion de cœur (solides).....	3,1 g
Peptonen.....	20,0 g
Dextrose.....	2,0 g
Chlorure de sodium.....	2,0 g
Phosphate de sodium.....	0,4 g
Carbonate de sodium.....	2,5 g
Gentamicine.....	8,0 mg
Acide nalidixique.....	15,0 mg

*Ajustée et/ou complémentée 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 »⁸⁻¹¹ 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 de 2 à 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.^{4,12} Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX METHODE

Matériaux fournis

Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid

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 pendant 18 à 24 h, en atmosphère aérobie enrichie ou non en dioxyde de carbone.

Si une turbidité apparaît dans le tube, 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.^{3,4,13}

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 gélose de soja **BBL 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, 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.

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.^{4,12,14}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Les caractéristiques de performances de tous les lots de Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid sont testées en usine. Des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés avec 1,0 mL de culture de *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12386) diluée à 1000 unités formant colonies (UFC) par mL au maximum et 1,0 mL de culture d'*Escherichia coli* (ATCC 25922) diluée à 10⁵ UFC/mL. Les tubes sont incubés à 35 ± 2 °C, avec les bouchons desserrés. *S. agalactiae* présente une croissance modérée à importante dans les 3 jours alors qu'*E. coli* est inhibé après 3 jours d'incubation.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
299486	BD BBL Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid, 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. Centers for Disease Control and Prevention. 2002. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 51 (No. RR-11):1.
3. Ruoff, K.L., R.A. Wiley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*, p. 405-421. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
5. 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.
6. Updyke, E.L., and M.I. Nickle. 1954. A dehydrated medium for the preparation of type specific extracts of group A streptococci. Appl. Microbiol. 2:117-118.
7. MacFaddin, J.F. 1985. *Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria*, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.

9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Tenover, and R.H. Tenover (ed.) 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Isenberg, H. (ed.). 2004. *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1, 2 and 3, 2nd 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.

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