



BBL Todd Hewitt Broth
L007513 • Rev. 10 • Janvier 2015



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Le Todd Hewitt Broth sert principalement à la culture des streptocoques bêta-hémolytiques préalablement à un test sérologique.

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, ensemencer des tubes de 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.
 - b. Incuber les tubes, avec les bouchons desserrés, à $35 \pm 2^\circ\text{C}$ en atmosphère aérobie.
2. Examiner les tubes pour déceler une croissance éventuelle jusqu'à 3 jours.
3. Résultats attendus

**Streptococcus pyogenes* Croissance
ATCC 19615

**Streptococcus pneumoniae* Croissance
ATCC 6305

**Streptococcus agalactiae* Croissance
ATCC 12386

*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. S'assurer que la pH mesuré par potentiométrie à température ambiante est conforme à la spécification ($7,8 \pm 0,2$).
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 Todd Hewitt Broth (bouillon de Todd Hewitt) est un milieu polyvalent servant principalement à la culture des streptocoques bêta-hémolytiques, notamment pour les études sérologiques.

V RESUME ET EXPLICATION

Le Todd Hewitt Broth a initialement été mis au point pour servir à la production d'hémolysine de streptocoque.¹ Le milieu modifié selon Updyke et Nickle² sert à cultiver des streptocoques bêta-hémolytiques préalablement à un test d'immunofluorescence³ et au typage sérologique sur la base de la production de protéine M spécifique de type.⁴

VI PRINCIPES DE LA METHODE

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 disodique et du carbonate de sodium s'oppose à l'acidité résultant de la fermentation du dextrose, évitant ainsi une inactivation acide de l'hémolysine.⁴

VII REACTIFS

Todd Hewitt Broth

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

*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.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. 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 25 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Les tubes de milieu conservés comme indiqué sur l'étiquette peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption et incubés pendant les durées d'incubation recommandées. Maintenir à l'abri de la lumière.

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 manipulés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{5,6} Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX METHODE**Matériaux fournis**

Todd Hewitt Broth

Matériaux requis mais non fournis

Milieus 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 écouvillonnages de gorge dans des tubes de Todd Hewitt Broth avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C, en atmosphère aérobie, avec ou sans dioxyde de carbone ajouté, pendant 2 à 5 h, préalablement à un test d'immunofluorescence servant à l'identification des streptocoques de groupe A. L'incubation peut être poursuivie pendant environ 24 h avant de strier une boîte de gélose au sang pour isoler des colonies. Des cultures pures de streptocoques peuvent être cultivées en Todd Hewitt Broth avant de préparer des extraits servant au typage sérologique.

Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes de tests sérologiques.^{3,7}

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.

X RESULTATS

Consulter les publications citées en référence pour connaître les modes d'utilisation des cultures de streptocoques propagées en Todd Hewitt Broth préalablement à des tests sérologiques.^{3,7}

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Pour procéder à l'identification, les microorganismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.^{5,6,8}

Les milieux de culture contiennent parfois des organismes morts provenant des éléments composant le milieu, qui peuvent apparaître sous la forme de trainées dans le milieu de culture. Les réactifs de coloration, l'huile d'immersion, les lames de verre et les échantillons utilisés pour l'ensemencement constituent d'autres sources d'organismes morts qui deviennent visibles après une coloration de Gram. S'il existe un doute concernant la coloration de Gram, la culture doit être réincubée pendant une heure ou deux et le test répété avant qu'un compte rendu ne soit donné.

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Tous les lots de Todd Hewitt Broth sont testés en usine afin d'établir leurs caractéristiques de performances. Des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés avec 1,0 mL de cultures de *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12386), *S. pneumoniae* (ATCC 6305) et *S. pyogenes* (ATCC 19615) diluées à 1 000 unités formant colonies (UFC) au maximum par mL. Les tubes sont incubés à 35 ± 2 °C, avec les bouchons desserrés. Toutes les cultures présentent une croissance modérée à importante dans les 3 jours.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221713	BD BBL Todd Hewitt Broth, 5 mL, coffret de 10 tubes de taille K
221714	BD BBL Todd Hewitt Broth, 5 mL, carton de 100 tubes de taille K
297778	BD BBL Todd Hewitt Broth, 0,5 mL, coffret de 10 tubes de taille K

XIV REFERENCES

1. Todd, E.W., and L.F. Hewitt. 1932. A new culture medium for the production of antigenic streptococcal haemolysin. J. Pathol. Bacteriol. 35:973-975.
2. 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.
3. Jones, G.L., G.A. Hebert, and W.B. Cherry. 1978. Fluorescent antibody techniques and bacterial applications, HEW Publication (CDC) No. 78-364, Center for Disease Control, Atlanta.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
5. 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.
6. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
7. Facklam, R.R., and J.A. Washington II. 1991. Streptococcus and related catalase-negative gram-positive cocci, p. 238-257. In A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. 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