



ITALIANO

USO PREVISTO

TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) è un terreno pronto all'uso per l'arricchimento selettivo per Streptococchi gruppo B (*Streptococcus agalactiae*).

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Streptococcus agalactiae (GBS) è uno dei principali responsabili di infezioni gravi quali sepsi, meningiti, polmoniti nel neonato, oltre che agente eziologico di adulti diabetici o malati cronici. E' ormai universalmente accettato che nella maggior parte dei casi la trasmissione dalla madre portatrice al neonato si verifichi in utero per via ascendente in prossimità del parto o durante il parto (1). La messa in evidenza della colonizzazione materna nelle ultime settimane di gravidanza è estremamente importante poiché da essa dipenderà la somministrazione del trattamento profilattico al momento del parto e quindi la protezione del bambino da una possibile infezione. Le linee guida elaborate dai Centers for Diseases Control degli USA forniscono indicazioni per il trattamento ottimale dei campioni da analizzare per sospetta presenza di GBS. Specificatamente per il rilevamento dello stato di portatore ano-genitale in donne in gravidanza, i campioni dovrebbero essere prelevati alla 35a-37ª settimana di gestazione, con un tampone ottenuto al livello vaginale ed un secondo a livello ano-rettale. La metodica standard per la diagnosi di GBS è quella della coltivazione su specifici terreni. L'uso di un terreno liquido selettivo che inibisca la crescita degli altri microrganismi presenti nel tampone aumenta la selettività del metodo del 60-90% (2).

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il Todd Hewitt costituente la base del brodo, è un terreno di crescita principalmente utilizzato per la coltura degli Streptococchi specialmente per studi sierologici (3). Il destrosio stimola la formazione di emolisina ed al contempo la sua fermentazione rappresenta la fonte di energia. Il sistema tamponante (sodio bicarbonato e sodio fosfato) contribuisce al mantenimento del pH contrastando l'acidità formatasi per fermentazione dello zucchero. L'aggiunta di un supplemento antimicrobico (Acido Nalidixico e Colistina) con azione inibente verso i microrganismi Gram negativi rende il terreno selettivo.

REAGENTI

Composizione terreno TODD HEWITT BROTH CNA (LIM)

Infusion of meat (fat-free)

Tryptone

Glucose

Sodium bicarbonate

Sodium chloride

Di-sodium phosphate

Colistin sulphate

Nalidixic acid

pH

7.7 ± 0.2 A 25 °C

PRECAUZIONI D'USO E AVVERTENZE

- TODD HEWITT CNA BROTH è un dispositivo monouso destinato all'uso diagnostico in vitro. Il riutilizzo può causare rischio di infezione e/o di risultati inaccurati.
- Osservare le precauzioni approvate relative a materiali biologici potenzialmente pericolosi nonché alle tecniche in asepsi.
- L'uso deve essere limitato al personale adeguatamente addestrato e qualificato. Il produttore declina ogni responsabilità derivante dall'utilizzo di persone non qualificate o non autorizzate.
- I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi virus dell'Epatite o dell'immunodeficienza umano. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle linee guida e alla "precauzioni standard" dettate dagli organi istituzionali.
- Tutti i campioni ed i materiali impiegati per l'analisi del prodotto sono da considerarsi potenzialmente infetti e devono essere quindi gestiti in modo tale da evitare il rischio di infezione del personale di laboratorio. Dopo l'uso sterilizzare tutti i rifiuti potenzialmente pericolosi compresi campioni, contenitori e terreni di trasporto e coltura.
- Attenersi rigorosamente alle istruzioni.
- Non adatto al trasporto di microrganismi non compresi nella destinazione d'uso.
- Non ingerire il terreno.
- Non utilizzare il terreno per preinumidire o prebagnare il tampone prima della raccolta del campione o risciacquare od irrigare i siti di campionamento
- Il prodotto non è riutilizzabile, il riutilizzo potrebbe causare diagnosi non corretta.
- Non utilizzare in caso di evidenti segni di danneggiamento
- Evitare il contatto della pelle con il terreno

Qualora il prelievo ed il trasporto del campione fosse stato eseguito utilizzando i comuni sistemi di prelievo e trasporto e il campione volesse essere processato con i sistemi automatici di piastratura è necessario, prima di processare il campione con l'automazione, rimuovere il tampone dalla provetta contenente il terreno di arricchimento.

CONSERVAZIONE E SHELF LIFE

TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) è pronto all'uso e non necessita di ulteriori preparazioni. Deve essere conservato nell'imballo originale a 5-25°C fino al momento dell'utilizzo. Non surriscaldare. Non incubare o congelare prima dell'uso, una conservazione inappropriata determina una perdita di efficacia. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sulla confezione esterna e sull'etichetta della provetta del terreno.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO

Copan Italia S.p.A. Via Perotti, 10 – 25125 BRESCIA – Italy Tel.: ++39 030 2687211–Fax: ++39 030 2687206

E-mail: info@copanitalia.com – Web site: www.copanitalia.com



Non utilizzare TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) se il prodotto presenta segni visibili di danneggiamento o contaminazione, di perdite od in presenza di altri segni di deterioramento. .

PROCEDURA

MATERIALE FORNITO con il codice 476CE..A:

TODD HEWITT CNA BROTH (LIM)

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI: Piastre di cultura ancillari, reagenti, organismi per il controllo qualità, strumentazione varia di laboratorio e Tampone Floccato Regular con punto di frattura stampato a 80 mm (53380CS01)

NB Qualora il tampone venga processato con automazioni l'asta validata all'uso è il Tampone Floccato Regular con punto di frattura stampato a 80 mm (553380CS01).

GESTIONE DEI CAMPIONI: per lo screening della colonizzazione batterica da parte di Streptococco B in donne gravide, si utilizzano normalmente tamponi vagino/rettali. Dopo l'esecuzione del prelievo i tamponi mantenuti in idoneo terreno per il trasporto e la conservazione vanno preferenzialmente custoditi in condizioni refrigerate fino all'esecuzione del test.

ISTRUZIONI PER L'USO:

- Rimuovere il/i tampone/i dal terreno di trasporto ed inserirlo/i nella provetta di terreno selettivo spremendo sulle pareti per estrarre la maggior quantità di campione eventualmente vortexare per qualche minuto per facilitare il completo rilascio del campione dal tampone. *Nel caso in cui si stia utilizzando TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) in unione al tampone floccato regular (53380CS01) come sistema per il mantenimento, omogeneizzare il campione scuotendo o vortexando la provetta.*
- Incubare aerobicamente o in atmosfera arricchita di CO₂ per 18-24 ore a 35-37°C
- Al termine dell'incubazione, se si osserva torbidità nella provetta, si può procedere alla semina su idoneo terreno in piastra (Blood Agar plate); prolungare l'incubazione in provetta per ulteriori 24 ore prima di confermare eventuali negativi. La semina su piastra può essere eseguita mediante:
 - Semina con automazione WASP; riferirsi al manuale della strumentazione per ulteriori spiegazioni in merito. Si ricorda di eliminare il tampone dal terreno se presente nella provetta e se diverso dal tampone floccato regular (53380CS01).
 - Semina diretta con tampone.
 - Semina di 100µL di sospensione prelevati con micropipetta e successiva distribuzione del campione su piastra con spatola.
- Incubare le piastre per 18-24 ore, o fino a 48 ore se necessario, a 35-37°C in condizioni aerobiche.
- Osservare la crescita delle caratteristiche colonie grigio bianche beta-emolitiche o non emolitiche (GBS è un cocco gram positivo, catalasi negativo). L'incubazione dovrebbe essere prolungata alle 48 ore se al termine delle 18-24 ore non si evidenziano colonie di Streptococco gruppo B.
- Utilizzare le colonie isolate per eseguire ulteriori conferme con test di agglutinazione o test raccomandati per il rilevamento di antigeni di Streptococco gruppo B rifacendosi alle procedure del produttore per le istruzioni d'uso e la lettura dei risultati.

RISULTATI

I risultati ottenuti dipendono sostanzialmente dalla correttezza e adeguatezza dei campioni nonché dalla tempestività del trasporto e trattamento in laboratorio.

CONTROLLO QUALITA' E PERFORMANCE

Le procedure per il controllo qualità comprendono la verifica della performance del sistema. TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) è terreno di accrescimento selettivo per GBS, pertanto le procedure interne per il controllo qualità prevedono la verifica di entrambe le caratteristiche. In particolare la verifica della capacità di mantenimento e di accrescimento del terreno viene eseguita utilizzando una sospensione pura del microorganismo target (GBS) mentre per la verifica della capacità di inibizione si utilizza una sospensione pura di un gram negativo (Escherichia coli).

Procedura:

- Partendo da una coltura fresca in piastra, si procede all'allestimento di una sospensione 0.5 McFarland del microorganismo in soluzione fisiologica.
- 0.1mL di diluizioni 1:100 dei due microrganismi, prelevati con micropipetta graduata, sono utilizzati per inoculare in condizioni asettiche i tubi di terreno.
- I tubi vengono quindi incubati in termostato alla temperatura di 35°C per 24 ore; l'ispezione delle provette e la subcultura su piastra di Blood Agar Plate sono utilizzati come parametri di accettabilità per il rilascio del lotto.

Microrganismo	ATCC	Risultato
Streptococcus agalactiae	ATCC 12386	Crescita
Escherichia coli	ATCC 25922	Inibizione (da parziale a totale)

DISPONIBILITA'

CODICE	DESCRIZIONE
476CE.A	6 cartoni contenenti 50 tubi con 2 ml di TODD HEWITT medium

BIBLIOGRAFIA

- (1) Schuchat A. Group B Streptococcus; *Lancet* 1999; 353:51-56
- (2) Schrang S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A Prevention of perinatal group B streptococcal disease. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 2002;51 (No.RR-11):[4]
- (3) Todd, E.W., Hewitt L. F. A new culture medium for the production of antigenic streptococcal haemolysin. *J. Pathol. Bacteriol.* 1932; 35: 973-974

Copan Italia S.p.A. Via Perotti, 10 – 25125 BRESCIA – Italy Tel.: ++39 030 2687211–Fax: ++39 030 2687206
E-mail: info@copanitalia.com – Web site: www.copanitalia.com

ENGLISH**INTENDED USE**

TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) is a ready to use medium for selective enrichment for group-B Streptococci (*Streptococcus agalactiae*).

SUMMARY AND EXPLANATION

Streptococcus agalactiae (GBS) is one of the main causes of serious infections, such as sepsis, meningitis, and pneumonia in newborn babies, as well as an etiological agent in diabetic adults or chronic patients. It is now universally accepted that in most cases the transmission from a carrier mother to the fetus occurs in the uterus through ascending transmission right before or during delivery (1). The identification of maternal colonization during the last weeks of pregnancy is extremely important, as the administration of preventive treatment upon delivery, thus the fetus protection from a possible infection, will depend on such identification. The guidelines developed by the US Centers for Diseases Control provide indications for optimal treatment of samples to be analyzed for suspected GBS. Specifically, for the detection of anal-genital carrier status in pregnant women, samples should be taken on the 35th to 37th pregnancy week, with a vaginal swab and a second anal-rectal swab. The standard method for GBS diagnosis is based on culture in specific cultural media. The use of a selective broth inhibiting the growth of the other microorganisms in the swab increases the method selectivity by 60-90% (2).

PROCEDURE PRINCIPLES

Todd Hewitt forms the broth base and is a growth medium mainly used for culture of Streptococci, especially for serological studies (3). Dextrose stimulates haemolysin formation; at the same time, dextrose fermentation is the source of energy. The buffering system (sodium bicarbonate and sodium phosphate) contributes to maintaining the pH level, by countering the acidity formed by sugar fermentation. Through the addition of an antimicrobial supplement (Nalidixic Acid and Colistin) with inhibiting action against Gram-negative microorganisms, the cultural medium becomes selective.

REAGENTS**TODD HEWITT BROTH CNA (LIM) Composition**

Infusion of meat (fat-free)

Tryptone

Glucose

Sodium bicarbonate

Sodium chloride

Di-sodium phosphate

Colistin sulphate

Nalidixic acid

pH

7.7 ± 0.2 AT 25 °C

USE PRECAUTIONS AND WARNING NOTICES

1. TODD HEWITT CNA BROTH is a SINGLE USE device for diagnostic use in vitro. Its reuse may cause infections and/or inaccurate results.
2. Observe approved precautions for potentially hazardous biological materials, as well as techniques in asepsis.
3. Use must be limited to properly trained and qualified staff. The manufacturer shall not be liable for any use by non-qualified or non-authorized people.
4. Clinical samples may contain pathogens, including hepatitis or human immunodeficiency viruses. Handle all materials and items contaminated with blood and other biological fluids in accordance with the guidelines and "standard precautions" provided by institutional bodies.
5. All samples and materials used for product analysis shall be considered as potentially infected and shall be managed in a way as to avoid the risk of infection for laboratory staff. After use, sterilize all potentially hazardous waste, including samples, containers, and transport and culture media.
6. Observe the instructions rigorously.
7. Not appropriate for transport of microorganisms not included in the use destination.
8. Do not ingest the medium.
9. Do not use the medium to pre-moisten or pre-wet the swab before sample collection, or to rinse or irrigate the sampling sites.
10. The product cannot be reused; its reuse may cause inappropriate diagnosis.
11. Do not use in case of evident damage to the product.
12. Avoid any skin contact with the cultural medium.

In the case sample taking and transport have been performed using common taking and transport systems, and the sample should be processed with automatic plating systems, remove the swab from the tube containing the enriched medium before processing the sample through automatic systems.

STORAGE AND SHELF LIFE

TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) is ready to use and does not require any other preparations. It shall be kept in its original package at 5-25 °C until it is used. Do not overheat. Do not incubate or freeze before use. Inappropriate storage causes a loss of effectiveness. Do not use after the expiry date shown on the external package and medium tube label.

PRODUCT DETERIORATION

Do not use TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) if the product is clearly damaged or contaminated, and leakages or other deterioration signs are visible.

PROCEDURE

MATERIAL SUPPLIED with the number 476CE.A:

TODD HEWITT CNA BROTH (LIM)

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED: Ancillary culture plates, reagents, organisms for quality assurance, various laboratory instruments, and Regular Flocked Swab with fracture point printed at 80 mm (53380CS01).

NOTE: In the case the swab is processed through automatic systems, the stem validated for use is the Regular Flocked Swab with fracture point printed at 80 mm (53380CS01).

SAMPLE MANAGEMENT: For screening of bacterial colonization by Streptococcus B in pregnant women, vaginal/rectal swabs are normally used. After samples have been taken, swabs kept in appropriate transport and storage medium shall be preferably kept in refrigerated conditions until tests are performed.

USE INSTRUCTIONS:

- Remove the swab(s) from the transport medium and introduce it in the selective medium tube, squeezing the tube walls to extract as much sample material as possible. If necessary, vortex for a few minutes to facilitate complete sample release from the swab. *In the case TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) is used in combination with Regular Flocked Swab (53380CS01) as the maintenance system, homogenize the sample by shaking or vortexing the tube.*
- Incubate aerobically or in CO₂-enriched atmosphere for 18-24 hours at 35-37 °C.
- At the end of incubation, if turbidity is observed in the tube, spread on appropriate Blood Agar plate. Extend incubation in tube for 24 hours more before confirming any negatives. Spreading on plate can be performed through:
 - Plating with WASP automation; refer to the instruments manual for any additional explanations. Remember to remove the swab from the medium, if it is in the tube and if it is different from the Regular Flocked Swab (53380CS01).
 - Direct plating with swab.
 - Plating of 100 µl suspension taken with micropipette and sample distribution on plate with a spatula.
- Incubate the plates for 18-24 hours, or up to 48 hours, if necessary, at 35-37 °C in aerobic conditions.
- Observe the growth of typical grey-white beta-hemolytic or non-hemolytic colonies (GBS is a gram-positive catalysis-negative coccus). The incubation should be extended to 48 hours, if no group-B Streptococcus colonies are identified at the end of the 18-24 hour period.
- Use the isolated colonies for further confirmation through agglutination tests or recommended tests for detection of group-B Streptococcus antigens, referring to the manufacturer procedures for use instructions and reading of results.

RESULTS

The results obtained substantially depend on proper sampling, as well as on quick transport and treatment in laboratories.

QUALITY ASSURANCE AND PERFORMANCE MONITORING

Quality assurance procedures include system performance monitoring. TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) is a selective growth medium for GBS. Therefore, the internal quality assurance procedures include the review of both characteristics. In particular, the medium maintenance and growth capacity is checked using a pure suspension of the target microorganism (GBS), whereas a pure suspension of a gram-negative microorganism (*Escherichia coli*) is used to check the inhibition capacity.

Procedure:

- Starting from a fresh culture on plate, prepare a 0.5 McFarland suspension of the microorganism in physiological solution.
- 0.1 ml dilutions 1:100 of the two microorganisms taken with graduated micropipette are used to incubate the medium tubes in aseptic conditions.
- The tubes are incubated in thermostat at the temperature of 35 °C for 24 hours; the inspection of tubes and subculture on Blood Agar Plate are used as acceptability parameters for batch release.

Microorganism	ATCC	Result
<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC 12386	Growth
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Inhibition (from partial to total)

AVAILABILITY

CODE	DESCRIPTION
476CE.A	6 boxes containing 50 tubes with 2 ml TODD HEWITT medium

REFERENCES

- (4) Schuchat A. Group B Streptococcus; *Lancet* 1999; 353:51-56
- (5) Schrang S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A Prevention of perinatal group B streptococcal disease. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 2002;51 (No. RR-11):[4]
- (6) Todd, E.W., Hewitt L. F. A new culture medium for the production of antigenic streptococcal haemolysin. *J. Pathol. Bacteriol.* 1932; 35: 973-974

FRANCAIS**UTILISATION PRÉVUE**

TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) est un milieu prêt pour l'emploi pour l'enrichissement sélectif pour les Streptocoques du groupe B (*Streptococcus agalactiae*).

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le *Streptococcus agalactiae* (streptocoque du groupe B) est une des causes principales d'infections graves, telles qu'infection générale, méningites, pneumonies dans les nouveau-nés, et un agent étiologique d'adultes diabétiques ou malades chroniques. Il est désormais universellement accepté que dans la plupart des cas la transmission d'une mère porteuse à son nouveau-né a lieu dans l'utérus par la voie ascendante peu avant ou pendant l'accouchement (1). La mise en évidence de la colonisation maternelle pendant les dernières semaines de grossesse est extrêmement importante, car l'administration du traitement prophylactique au moment de l'accouchement et donc la protection du bébé contre une infection possible dépendra de cette mise en évidence. Les lignes directrices formulées par les Centers for Diseases Control des États-Unis fournissent des indications pour le traitement optimal des échantillons à analyser dans le cas de présence suspecte de streptocoque du groupe B. Spécifiquement, pour l'identification de la condition de porteur anal-génital dans les femmes pendant la période de grossesse, les échantillons devraient être prélevés à la 35^e-37^e semaine de gestation, avec un tampon obtenu au niveau vaginal et un deuxième au niveau anal-rectal. La méthode standard pour le diagnostic de streptocoque du groupe B est celle de la culture sur des milieux spécifiques. L'utilisation d'un milieu liquide sélectif qui inhibe la croissance des autres microorganismes présents dans le tampon augmente la sélectivité de la méthode de 60-90% (2).

PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le Todd Hewitt forme la base du bouillon et il est un milieu de croissance utilisé principalement pour la culture des streptocoques en particulier pour des études sérologiques (3). Le dextrose stimule la formation d'hémolyse et au même temps sa fermentation est la source d'énergie. Le système tamponnant (bicarbonate de soude et phosphate de soude) contribue au maintien du pH, par le contraste de l'acidité qui se forme par la fermentation du sucre. Par l'ajoute d'un supplément antibactérien (Acide nalidixique et Colystine) avec l'action d'inhibition des microorganismes Gram négatifs, le milieu devient sélectif.

RÉACTIFS**Composition milieu TODD HEWITT BROTH CNA (LIM)**

Infusion de viande (dégraissée)

Tryptone

Glucose

Bicarbonate de sodium

Chlorure de sodium

Phosphate disodique

Sulfate de colystine

Acide nalidixique

pH

7,7 ± 0,2 A 25 °C

PRÉCAUTIONS POUR L'EMPLOI ET AVERTISSEMENTS

1. TODD HEWITT CNA BROTH est un dispositif jetable destiné à l'utilisation diagnostique in vitro. Sa réutilisation peut causer le risque d'infections et/ou de résultats imprécis.
2. Respecter les précautions approuvées concernant les matériaux biologiques potentiellement dangereux et les techniques en asepsie.
3. L'utilisation doit être limitée aux personnels ayant la formation et les qualifications appropriées. Le producteur décline toute responsabilité dans le cas d'utilisation par des personnes non-qualifiées ou non-autorisées.
4. Les échantillons cliniques peuvent contenir des microorganismes pathogènes, y compris les virus de l'hépatite ou de l'immunodéficience humaine. Manipuler tous les matériaux et les articles contaminés avec sang et autres fluides biologiques conformément aux lignes directrices et aux « précautions standard » fixées par les organismes institutionnels.
5. Tous les échantillons et les matériaux utilisés pour l'analyse du produit doivent être considérés potentiellement infectés et ils doivent être gérés de manière à éviter le risque d'infection pour les personnels de laboratoire. Après l'emploi, stériliser tous les déchets potentiellement dangereux, y compris les échantillons, les conteneurs et les milieux de transport et de culture.
6. Respecter rigoureusement les instructions.
7. Non-indiqué pour le transport de microorganismes qui ne sont pas compris dans l'utilisation prévue.
8. Ne pas ingérer le milieu.
9. Ne pas utiliser le milieu pour pré-humecter ou pré-mouiller le tampon avant de collecter l'échantillon ou pour rincer ou irriguer les sites d'échantillonnage.
10. Le produit ne peut pas être réutilisé ; sa réutilisation pourrait causer des diagnostics incorrects.
11. Ne pas utiliser dans le cas de dommages évidents du produit.
12. Éviter le contact de la peau avec le milieu.

Si le prélèvement et le transport d'un échantillon a été réalisé avec l'emploi des systèmes communs de prélèvement et transport et l'échantillon doit être traité par les systèmes automatiques de préparation de cultures en plaques, enlever le tampon de l'éprouvette contenant le milieu d'enrichissement, avant de traiter l'échantillon par des systèmes automatiques.

CONSERVATION ET DURÉE

TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) est prêt pour l'emploi et n'a pas besoin d'autres préparations. Il doit être conservé dans son emballage original à 5-25 °C jusqu'au moment de l'utilisation. Ne pas surchauffer. Ne pas incuber ou congeler avant l'emploi ; une conservation inappropriée cause une perte d'efficacité. Ne pas utiliser après la date d'expiration indiquée sur l'emballage extérieur et sur l'étiquette de l'éprouvette du milieu.

DÉTÉRIORATION DU PRODUIT

Copan Italia S.p.A. Via Perotti, 10 – 25125 BRESCIA – Italy Tel.: ++39 030 2687211–Fax: ++39 030 2687206

E-mail: info@copanitalia.com – Web site: www.copanitalia.com



Ne pas utiliser TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) si le produit présente des dommages visibles ou contamination, des fuites ou si d'autres indications de détérioration sont présentes.

PROCÉDURE

MATÉRIAU FOURNI avec le code 476CE..A :

TODD HEWITT CNA BROTH (LIM)

MATÉRIAUX NÉCESSAIRES MAIS QUI NE SONT PAS FOURNIS : Plaques de culture ancillaires, réactifs, organismes pour le contrôle de la qualité, instruments de laboratoire et un « Tampon Floqué Regular » avec point de fracture imprimé à 80 mm (53380CS01).

NB : Si le tampon est traité par des systèmes automatiques, la tige validée pour l'emploi est le « Tampon Floqué Regular » avec point de fracture imprimé à 80 mm (53380CS01).

GESTION DES ÉCHANTILLONS : pour le screening de la colonisation de bactéries par Streptocoque B dans des femmes enceintes, des tampons vaginaux/rectaux sont normalement utilisés. Après le prélèvement, les tampons gardés dans un milieu approprié pour le transport et la conservation doivent être gardés de préférence réfrigérés jusqu'à la réalisation de l'essai.

INSTRUCTIONS POUR L'EMPLOI :

- Extraire le(s) tampon(s) du milieu de transport et le(s) introduire dans l'éprouvette de milieu sélectif, pressant sur les parois pour extraire la plus grande quantité d'échantillon. Si nécessaire, passer dans vortex pendant quelques minutes pour faciliter la sortie totale de l'échantillon du tampon. *Dans le cas où TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) est utilisé avec le « tampon floqué regular » (53380CS01) comme système pour le maintien ; homogénéiser l'échantillon en secouant ou passant au vortex l'éprouvette.*
- Incuber en condition d'aérobie ou en atmosphère enrichie de CO₂ pendant 18-24 heures à 35-37 °C.
- À la fin de l'incubation, si de la turbidité est observée dans l'éprouvette, on peut semer sur un milieu approprié sur plaque (Blood Agar plate) ; prolonger l'incubation en éprouvette encore pendant 24 heures avant de confirmer tout négatif. On peut semer sur plaque par :
 - Ensemencement par automation WASP ; faire référence au manuel de l'instrumentation pour d'autres explications à ce sujet. Il est rappelé d'éliminer le tampon du milieu, s'il est présent dans l'éprouvette et s'il est différent du « tampon floqué regular » (53380CS01).
 - Ensemencement direct par tampon.
 - Ensemencement de 100 µl de suspension prélevé par micropipettes et distribution successives de l'échantillon sur plaque avec une spatule.
- Incuber les plaques pendant 18-24 heures ou bien jusqu'à 48 heures, si nécessaire, à 35-37°C dans des conditions d'aérobie.
- Observer la croissance des colonies caractéristiques grises-blanches bêta-hémolytiques ou non hémolytiques (le streptocoque du groupe B est un streptocoque gram positif, catalase négatif). L'incubation devrait être prolongée à 48 heures si, à la fin des 18-24 heures on ne trouve pas de colonies de Streptocoque du groupe B.
- Utiliser les colonies isolées pour effectuer des confirmations additionnelles avec un essai d'agglutination ou les essais recommandés pour la détection d'antigènes de Streptocoque du groupe B, suivant les procédures du producteur pour les instructions pour l'emploi et la lecture des résultats.

RÉSULTATS

Les résultats obtenus dépendent essentiellement des échantillons corrects et appropriés et du transport et traitement en laboratoire rapides.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ ET PERFORMANCES

Les procédures pour le contrôle de la qualité comprennent la vérification des performances du système. TODD HEWITT CNA BROTH (LIM) est un milieu de croissance sélectif pour streptocoque du groupe B. Par conséquent, les procédures internes pour le contrôle de la qualité prévoient la vérification des deux caractéristiques. En particulier, la vérification de la capacité de maintien et de croissance du milieu est effectuée par l'utilisation d'une suspension pure du microorganisme cible (streptocoque du groupe B), tandis que pour la vérification de la capacité d'inhibition on peut utiliser une suspension pure d'un gram négatif (Escherichia coli).

Procédure:

- Partant d'une culture fraîche sur plaque, on prépare une suspension 0.5 McFarland du microorganisme dans une solution physiologique.
- 0,1 ml de dilutions 1:100 des deux microorganismes, prélevés par une micropipette graduée, sont utilisés pour incuber les éprouvettes de milieu dans des conditions aseptiques.
- Les éprouvettes sont donc incubées en thermostat à la température de 35°C pendant 24 heures ; l'inspection des éprouvettes et la subculture sur plaque de Blood Agar Plate sont utilisées comme paramètres d'acceptabilité pour la livraison du lot.

Microorganisme	ATCC	Résultat
Streptococcus agalactiae	ATCC 12386	Croissance
Escherichia coli	ATCC 25922	Inhibition (de partielle à totale)

DISPONIBILITÉ

CODE	DESCRIPTION
476CE.A	6 cartons contenant 50 éprouvettes avec 2 ml de milieu TODD HEWITT

BIBLIOGRAPHIE

- (7) Schuchat A. Group B Streptococcus; *Lancet* 1999; 353:51-56
- (8) Schrang S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A Prevention of perinatal group B streptococcal disease. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 2002;51 (No.RR-11):[4]
- (9) Todd, E.W., Hewitt L. F. A new culture medium for the production of antigenic streptococcal haemolysin. *J. Pathol. Bacteriol.* 1932; 35: 973-974