



PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

I WPROWADZENIE

Todd Hewitt Broth (Bulion Todd Hewitt) jest stosowany głównie do hodowli beta-hemolizujących paciorkowców, zwłaszcza do badań serologicznych.

II PROCEDURA TESTU WYDAJNOŚCI

- Inokulować reprezentatywne próbki podłoża hodowlami wymienionych poniżej szczepów.
 - Stosując jałowe pipety o objętości 1,0 mL, należy wykonać posiew w probówkach używając 1,0 mL rozcieńczeń z trwającej 18 – 24 godziny hodowli **Trypticase** Soy Broth. Zastosowane rozcieńczenie powinno zawierać 1000 lub mniej CFU/mL.
 - Inkubować próbki z poluzowanymi zatyczkami w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$ w atmosferze tlenowej.
- Po 3 dniach należy sprawdzić próbki pod kątem wzrostu kolonii.
- Oczekiwane wyniki

Mikroorganizmy	ATCC	Odzysk
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Wzrost
* <i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Wzrost
* <i>Streptococcus agalactiae</i>	12386	Wzrost

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

- Oceń próbki według opisu w części „Pogorszenie jakości produktu”.
- Wzrokowo oceń reprezentatywne próbki, aby upewnić się, że w ich użytkowaniu nie będą przeszkadzały żadne wady fizyczne.
- Określić potencjometrycznie wartość pH w temperaturze pokojowej w celu upewnienia się, że odczyn jest zgodny ze specyfikacją i wynosi $7,8 \pm 0,2$.
- Reprezentatywne próbki bez wysianych drobnoustrojów inkubować w temperaturze $20 - 25^\circ\text{C}$ oraz $30 - 35^\circ\text{C}$ i po 7 dniach ocenić pod kątem zanieczyszczenia drobnoustrojami.

INFORMACJA O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

Todd Hewitt Broth jest uniwersalnym podłożem, stosowanym przede wszystkim do hodowli beta-hemolizujących paciorkowców, zwłaszcza do badań serologicznych.

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Todd Hewitt Broth pierwotnie opracowano w celu produkcji hemolizyny paciorkowców.¹ Modyfikacja przeprowadzona przez Updyke i Nickle² służy do hodowli beta-hemolizujących paciorkowców wykorzystywanych do procedur testów przeciwciał fluorescencyjnych³ i serotypowania opartego na wytwarzaniu swoistego dla typu białka M.⁴

VI ZASADY PROCEDURY

Podłoże charakteryzuje się dużą zawartością składników odżywczych, ponieważ zawiera peptony, dekstrozę oraz sole. Dekstroza pobudza wytwarzanie hemolizyny. Fosforan dwusodowy i węglan sodu zapewniają działanie buforujące, przeciwdziałając zakwaszaniu środowiska, do którego dochodzi podczas fermentacji dekstrozy. W ten sposób chronią hemolizynę przed inaktywacją powodowaną przez kwas.⁴

VII ODCZYNNIKI

Todd Hewitt Broth

Przybliżony skład* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

Wyciąg sercowy (stały).....	3,1 g	Chlorek sodu.....	2,0 g
Peptony.....	20,0 g	Fosforan sodu.....	0,4 g
Dekstroza.....	2,0 g	Węglan sodu.....	2,5 g

*Skorygowany lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami, których celem jest spełnienie kryteriów wydajności.

Ostrzeżenia i środki ostrożności: Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Probówki z ciasno dokręconymi nakrętkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła. Wykonywanie wszystkich procedur wymaga przestrzegania technik aseptycznych i środków ostrożności związanych z zagrożeniem mikrobiologicznym. Po użyciu gotowe próbki, pojemniki zawierające próbki oraz inne skażone materiały należy przed usunięciem wysterylizować w autoklawie.

Przechowywanie: Po otrzymaniu przechowywać próbki w ciemności w temperaturze $2 - 25^\circ\text{C}$. Nie zamrażać i nie przegrzewać. Otwierać bezpośrednio przed użyciem. W podłożach, które do momentu użycia przechowuje się w probówkach, zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas. Ograniczać do minimum ekspozycję na światło.

Pogorszenie jakości produktu: Nie używać podłoża w przypadku widocznych oznak skażenia mikrobiologicznego, zmian zabarwienia, wysychania lub innych objawów świadczących o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Dostępne są różne techniki postępowania z próbkami umożliwiającymi uzyskanie hodowli. Szczegółowe informacje znajdują się w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa.^{5,6} Próbkę należy uzyskać przed zastosowaniem środków przeciwbakteryjnych. Próbkę powinny zostać niezwłocznie dostarczone do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały: Todd Hewitt Broth

Materiały wymagane, ale niedostarczane: Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki, drobnoustroje do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodne z wymaganiami.

Procedura testowa: Stosować techniki aseptyczne.

Inkubować wymazy z gardła w zawierających bulion Todd Hewitt probówkach z poluzowanymi nakrętkami w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$, w warunkach tlenowych, z dodatkiem dwutlenku węgla lub bez, na 2-5 godzin przed zastosowaniem procedur przeciwciał fluorescencyjnych do identyfikacji paciorkowców grupy A. Inkubację można kontynuować przez ok. 24 godziny przed posiewem pasmowym w celu izolacji na płytkach agaru z krwią. Czyste hodowle paciorkowców można hodować w bulionie Todd Hewitt przed przygotowaniem wyciągów do serotypowania.

Informacje na temat określonych procedur serologicznych należy sprawdzić w odpowiednim piśmiennictwie.^{3,7}

Kontrola jakości przez użytkownika: Patrz „Procedury kontroli jakości”.

Należy postępować zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, krajowych lub federalnych, wymogami akredytacji i rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium. Zaleca się, aby użytkownik stosował się do odpowiednich wytycznych CLSI (dawniej NCCLS) i przepisów CLIA dotyczących metod kontroli jakości.

X WYNIKI

Metody utylizacji hodowli paciorkowców w bulionie Todd Hewitt przeznaczonym do procedur serologicznych opisano w odpowiednim piśmiennictwie.^{3,7}

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Do identyfikacji niezbędne są czyste kultury drobnoustrojów. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne lub serologiczne. W celu uzyskania szczegółowych informacji oraz wiadomości na temat zalecanych procedur należy zapoznać się z odpowiednimi pozycjami piśmiennictwa.^{5,6,8}

Podłoża hodowlane zawierają czasami pochodzące ze składników podłoża martwe organizmy, które mogą być widoczne w rozmazach z podłoży hodowlanych. Do innych źródeł martwych organizmów widocznych po zabarwieniu metodą Grama należą barwniki, olejki imersyjne, fragmenty szkła oraz próbki stosowane do posiewu. W przypadku niepewności związanej z prawidłowością barwienia metodą Grama należy przeprowadzić ponowną inkubację hodowli przez kolejną godzinę lub dwie, a następnie powtórzyć test przed wydaniem wyniku.

XII CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

Przed dopuszczeniem do obrotu wszystkie partie Todd Hewitt Broth są badane pod kątem charakterystyki wydajnościowej. Wykonuje się posiew na reprezentatywnych próbkach serii za pomocą 1,0 mL hodowli rozcieńczonej tak, aby zawierała 1000 lub mniej jednostek tworzących kolonie (CFU) na mL szczepów *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12386), *S. pneumoniae* (ATCC 6305) oraz *S. pyogenes* (ATCC 19615). Probówki są inkubowane z poluzowanymi nakrętkami w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Wszystkie drobnoustroje wykazują wzrost umiarkowany do intensywnego przed upływem 3 dni.

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat.	Opis
221713	BD BBL Todd Hewitt Broth, 5 mL, opakowanie zawierające 10 probówek o rozmiarze K
221714	BD BBL Todd Hewitt Broth, 5 mL, pudełko zawierające 100 probówek o rozmiarze K
297778	BD BBL Todd Hewitt Broth, 0,5 mL, opakowanie zawierające 10 probówek o rozmiarze K

XIV PIŚMIENNICTWO

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.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę 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