



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



PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

Il brodo Todd Hewitt viene principalmente utilizzato per la crescita di streptococchi beta-emolitici per l'uso in test sierologici.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - a. Con l'ausilio di una pipetta sterile da 1,0 mL, inoculare le provette usando 1,0 mL di diluizioni di colture di 18 – 24 h di **Trypticase Soy Broth**. La diluizione utilizzata deve contenere al massimo 1.000 UFC/mL.
 - b. Incubare le provette (con i tappi non completamente avvitati) a 35 ± 2 °C in atmosfera aerobica.
2. Esaminare la crescita nelle provette per un massimo di 3 giorni.
3. Risultati attesi

* <i>Streptococcus pyogenes</i>	Crescita
ATCC 19615	
* <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Crescita
ATCC 6305	
* <i>Streptococcus agalactiae</i>	Crescita
ATCC 12386	

*Ceppo batterico raccomandato per il controllo di qualità a cura dell'utente.

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

1. Esaminare le provette come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Eseguire un esame visivo delle provette rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
3. Determinare il pH mediante potenziometria a temperatura ambiente per verificare che rientri nel range specificato di $7,8 \pm 0,2$.
4. Incubare a 20 – 25 °C e a 30 – 35 °C le provette rappresentative non inoculate ed esaminarle dopo 7 giorni per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

Il brodo di Todd Hewitt è un supporto generico utilizzato principalmente nella coltivazione di streptococchi beta-emolitici, in particolare per studi sierologici.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Il brodo Todd Hewitt è stato in origine sviluppato per l'uso nella produzione di emolisina da streptococco.¹ La modifica apportata da Updyke e Nickle² viene utilizzata per la crescita di streptococchi beta-emolitici per uso in procedure di prova con anticorpi fluorescenti³ e per la tipizzazione sierologica basata sulla produzione di proteina specifica di tipo M.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Questo supporto è molto nutritivo per il suo contenuto di peptoni, destrosio e sali. Il destrosio stimola la produzione di emolisina. Il fosfato disodico ed il carbonato di sodio svolgono un'azione tamponante per contrastare l'acidità prodotta durante la fermentazione del destrosio, proteggendo così l'emolisina dalla disattivazione a causa dell'acido.⁴

VII REAGENTI

Todd Hewitt Broth

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Cuore, infuso (solidi)	3,1	g
Peptone	20,0	g
Destrosio	2,0	g
Cloruro di sodio	2,0	g
Fosfato sodico	0,4	g
Carbonato di sodio	2,5	g

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di performance.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Aprire con estrema cautela le provette con i tappi serrati allo scopo di evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso, le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati devono essere sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento.

Istruzioni per la conservazione

Al ricevimento, conservare le provette al buio a 2 – 25 °C. Evitare di congelare e surriscaldare.

Aprire soltanto al momento dell'uso. I terreni in provetta conservati come indicato sull'etichetta fino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.

Deterioramento del prodotto

Non usare le provette se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento o altri segni di deterioramento.

VIII RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

I campioni idonei per coltura possono essere manipolati con varie tecniche. Per informazioni specifiche, consultare i testi opportuni.^{5,6} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA**Materiale fornito**

Todd Hewitt Broth

Materiali necessari ma non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Procedura del test

Adottare tecniche asettiche.

Inoculare i tamponi faringei in provette non completamente tappate contenenti brodo di Todd Hewitt a 35 ± 2 °C in atmosfera aerobica, con o senza aggiunta di biossido di carbonio, per 2 – 5 h prima dell'utilizzo in procedure con anticorpi fluorescenti per l'identificazione di streptococchi di gruppo A. È possibile continuare l'incubazione per circa 24 h prima di effettuare lo striscio per l'isolamento su piastre di agar sangue. Le colture pure di streptococchi possono essere coltivate in brodo di Todd Hewitt prima della preparazione degli estratti per la tipizzazione sierologica.

Per le specifiche procedure^{3,7} dei test sierologici, consultare gli opportuni riferimenti.

Controllo di qualità a cura dell'utente

Vedere "Procedure di controllo di qualità".

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità in uso nel laboratorio. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

X RISULTATI

Per le procedure^{3,7} sierologiche, consultare gli opportuni riferimenti sui metodi di utilizzo di colture di streptococchi propagate in brodo di Todd Hewitt.

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Ai fini dell'identificazione, i microrganismi devono essere in coltura pura. Per l'identificazione finale, è necessario eseguire test morfologici, biochimici e/o sierologici. Per informazioni dettagliate e procedure raccomandate, consultare la documentazione appropriata.^{5,6,8}

I terreni di coltura contengono talvolta microrganismi morti derivati dai componenti del terreno, che possono essere visibili negli strisci da terreni di coltura. Altre fonti di microrganismi morti visibili alla colorazione di Gram includono reagenti di colorazione, olio di immersione, vetrini e gli stessi campioni usati per l'inoculo. In caso di incertezza sulla validità della colorazione di Gram, reincubare la coltura per un'altra ora o due e ripetere il test prima di eseguire il referto.

XII PERFORMANCE

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di Todd Hewitt Broth. I campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati con 1,0 mL di colture diluite in modo da contenere al massimo 1.000 Unità di Formazione della Colonia (UFC) per mL di *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12386), *S. pneumoniae* (ATCC 6305) e *S. pyogenes* (ATCC 19615). Le provette con i tappi non completamente avvitati vengono incubate a 35 ± 2 °C. Tutti gli organismi evidenziano una crescita da moderata a sostenuta entro 3 giorni.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
221713	BD BBL Todd Hewitt Broth, 5 mL, confezione da 10 provette di misura K
221714	BD BBL Todd Hewitt Broth, 5 mL, scatola da 100 provette di misura K
297778	BD BBL Todd Hewitt Broth, 0,5 mL, confezione da 10 provette di misura K

XIV BIBLIOGRAFIA

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.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito 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