

## PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

### I INTRODUZIONE

BBL Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid (brodo BBL Todd Hewitt con gentamicina e acido nalidixico) è usato per l'arricchimento selettivo degli streptococchi di gruppo B (*Streptococcus agalactiae*).

### II PROCEDURA DEL TEST

- Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
  - Usando pipette sterili da 1,0 mL, inoculare le provette con 1,0 mL di diluizioni di colture di 18 – 24 h di **Trypticase Soy Broth**. La diluizione usata non deve contenere più di 1.000 UFC/mL per *S. agalactiae* e  $1,0 \times 10^5$  UFC/mL per *E. coli*.
  - Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a  $35 \pm 2$  °C in aerobiosi.

- Esaminare le provette per un massimo di 3 giorni per verificare la crescita.

#### 3. Risultati attesi

\**Streptococcus agalactiae*..... Crescita

ATCC 12386

\**Escherichia coli*..... Nessuna crescita

ATCC 25922

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

### III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

- Esaminare le provette come descritto in "Deterioramento del prodotto".
- Eeguire un esame visivo delle provette rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
- Determinare il pH mediante potenziometria a temperatura ambiente per verificare che rientri nel range specificato di  $7,8 \pm 0,3$ .
- 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

BBL Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid è usato per l'arricchimento selettivo degli streptococchi di gruppo B (*Streptococcus agalactiae*), soprattutto da campioni provenienti dall'apparato genitale.

### V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Sin dalla sua comparsa negli anni settanta, la malattia neonatale da streptococco di gruppo B è diventata la maggiore causa infettiva di morbilità e mortalità tra i neonati. Prima del 1994, negli Stati Uniti si contavano 7.600 episodi annui di malattia invasiva da streptococco di gruppo B nei neonati, principalmente casi di sepsi e meningite, l'80% dei quali costituiva malattia a insorgenza precoce, verificandosi entro la prima settimana di vita.<sup>1</sup> La malattia si diffonde ai neonati tramite trasmissione verticale da madre portatrice di streptococco di gruppo B nel tratto genitale o anorettale.

I Centers for Disease Control and Prevention (CDC) hanno proposto linee guida per lo screening e l'uso di chemioprolifassi intrapartum per la prevenzione della malattia neonatale da streptococco di gruppo B.<sup>2</sup> L'uso del brodo Todd Hewitt con gentamicina e

acido nalidixico (o brodo Lim) è raccomandato per massimizzare le probabilità di recupero degli streptococchi di gruppo B in colture su piastra in agar sangue di montone.<sup>2,3</sup>

Gli streptococchi di gruppo B sono stati riscontrati anche in casi di sepsi in non puerpere e in uomini, nonché in infezioni articolari, osteomielite, infezioni delle vie urinarie e infezioni delle ferite. Sono associati a endocardite, polmonite e infezioni cutanee e dei tessuti molli in pazienti immunocompromessi.<sup>4</sup>

## VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il brodo Todd Hewitt è un terreno selettivo principalmente usato per la coltivazione di streptococchi  $\beta$ -emolitici, soprattutto per studi sierologici.<sup>5,6</sup> Il terreno è altamente nutritivo grazie al contenuto di peptoni, destrosio e sali. Il destrosio stimola la produzione di emolisina. Fosfato e carbonato di sodio forniscono un'azione tampone per contrastare l'acidità prodotta durante la fermentazione del destrosio, proteggendo così l'emolisina dall'inattivazione acida.<sup>7</sup>

La selettività per gli streptococchi di gruppo B è data dall'inclusione nel terreno di gentamicina e acido nalidixico. I brodi di arricchimento selettivi offrono il vantaggio sia dell'arricchimento che della selettività, fornendo condizioni favorevoli alla crescita degli streptococchi di gruppo B, inibendo al contempo la crescita di agenti contaminanti.

## VII REAGENTI

### BBL Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid

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
Gentamicina .....	8,0	mg
Acido nalidixico .....	15,0	mg

\*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.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".<sup>8-11</sup> 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 – 8 °C. Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. I terreni in provetta conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno si porti a temperatura ambiente.

### 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 dettagliate, consultare la documentazione appropriata.<sup>4,12</sup> Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

## IX PROCEDURA

### Materiale fornito

BBL Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid

### 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 le provette e incubarle per 18 – 24 h – con i tappi non completamente avvitati – a  $35 \pm 2$  °C in aerobiosi con o senza supplementazione con anidride carbonica.

Se si osserva torbidità, eseguire una subcoltura dal brodo di coltura in una piastra agar sangue di montone; altrimenti, incubare per altre 24 h prima di gettare.<sup>3,4,13</sup>

### 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.

Per determinare fotometricamente il pH dei terreni in provetta, usare un singolo elettrodo di dimensioni sufficientemente ridotte da permetterne l'inserimento nelle provette.

Posizionare la punta dell'elettrodo al di sotto della superficie del brodo.

## X RISULTATI

La crescita nel brodo è indicata dalla presenza di torbidità rispetto al controllo non inoculato.

Eseguire una subcoltura in **Trypticase Soy Agar** con sangue di montone al 5% (TSA II) e incubare per 18 – 24 h oppure sino a 48 h, se necessario. Identificare i microrganismi compatibili con streptococchi di gruppo B ( $\beta$  - o non-emolitici, gram-positivi e catalasi-negativi). Si può eseguire un'identificazione specifica, per esempio usando sieri di tipizzazione streptococcica, il test CAMP o altre procedure.

## 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.<sup>4,12,14</sup>

## XII PERFORMANCE

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid. Campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati con 1,0 mL di *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12386) diluito per contenere non più di 1.000 unità formanti colonie (UFC) per mL e 1,0 mL di *Escherichia coli* (ATCC 25922) diluito per contenere  $10^5$  UFC/mL. Le provette inoculate vengono incubate – con i tappi non completamente avvitati – a  $35 \pm 2$  °C. *S. agalactiae* presenta crescita moderata – intensa entro 3 giorni mentre *E. coli* è inibito dopo 3 giorni di incubazione.

## XIII DISPONIBILITÀ

### N. di cat. Descrizione

299486 **BD BBL Todd Hewitt Broth with Gentamicin and Nalidixic Acid**, cartone da 100 provette di misura K

## XIV BIBLIOGRAFIA

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. Whiley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*, p. 405-421. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenenbaum (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. Pfaller, and R.H. Tenenbaum (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.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito [www.bd.com/ds](http://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