

**ISTRUZIONI PER L'USO**

TODD HEWITT BROTH

Terreno di coltura pronto per l'uso in provetta



Todd Hewitt Broth – da sinistra: provetta non inocolata, *S. agalactiae*

1 - DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno liquido per uso generale, utilizzato principalmente per la coltivazione degli streptococchi β -emolitici, in particolare per studi sierologici.

2 - FORMULA TIPICA *

Infuso di cuore di manzo estratto da	500,0 g
Peptoni	20,0 g
Glucosio	2,0 g
Sodio cloruro	2,0 g
Sodio carbonato	2,0 g
Sodio fosfato bibasico	0,4 g
Acqua purificata	1000 mL

* Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Todd Hewitt Broth è un terreno sviluppato da Todd e Hewitt¹ nel 1932 per la produzione di emolisina streptococcica e successivamente modificato da Updyke e Nickle² nel 1954 per la crescita di streptococchi β -emolitici da utilizzare nelle procedure con anticorpi fluorescenti. Todd Hewitt Broth favorisce la crescita degli streptococchi β -emolitici e la produzione di emolisina; favorisce la produzione di proteina M tipo-specifica ed è utilizzato nelle procedure per l'estrazione degli antigeni di gruppo.³

Todd Hewitt Broth è anche usato come terreno generico per la coltivazione della maggior parte dei microrganismi patogeni.³

Todd Hewitt Broth ha un'alta concentrazione di peptoni che favorisce un'eccellente crescita microbica e previene la formazione di proteasi; il glucosio stimola la produzione di emolisina; il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico; il sodio carbonato ed il sodio fosfato bibasico neutralizzano l'acidità che si forma durante la crescita microbica e la fermentazione del glucosio proteggendo l'emolisina dalla denaturazione.

4 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno in provetta terreno limpido di colore giallo
pH finale a 25 °C 7,8 \pm 0,2

5 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Todd Hewitt Broth	Terreno pronto in provetta	552134	20 provette di vetro da 9 mL, 17x125 mm, con fondo piatto e tappo a vite, in scatola di cartone

6 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, anse da microbiologia, materiali per l'incubazione in condizioni controllate, reagenti e terreni di coltura accessori.

7 - CAMPIONI

Todd Hewitt Broth può essere inoculato con qualsiasi tipo di campione clinico da cui si intende isolare streptococchi (ad es. tampone faringeo). Quando possibile, raccogliere il campione prima dell'inizio della terapia antimicrobica. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, la conservazione ed il trasporto in Laboratorio dei campioni.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Rimuovere il tappo ed introdurre il tampone caricato con il campione nel brodo, rompere il bastoncino del tampone e rimettere il tappo. Incubare le provette inoculate in atmosfera con 5% di CO₂ per 2-5 ore per le procedure con anticorpi fluorescenti, per l'identificazione degli streptococchi di gruppo A. I tappi devono essere lasciati allentati durante l'incubazione.

Continuare l'incubazione per 18-24 ore per le procedure di estrazione dell'antigene prima della sierotipizzazione e della subcoltura su piastre adatte di agar sangue selettivo o non selettivo. Todd Hewitt Broth può essere inoculato con colture pure di streptococchi per la preparazione degli estratti per la tipizzazione sierologica. Consultare i riferimenti appropriati per ulteriori istruzioni.⁴

9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, la crescita microbica è indicata dalla torbidità che si sviluppa nelle provette inoculate. Eseguire i test di sierotipizzazione consultando le Istruzioni per l'Uso dei reattivi impiegati

10 - CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.



CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE (T° / t / ATM)	RISULTATI ATTESI
S. <i>pyogenes</i> ATCC 12834	35-37°/ 18-24H / A	crescita
S. <i>pneumoniae</i> ATCC 6303	35-37°/ 18-24H / A	crescita

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di provette pronte all'uso e della materia prima impiegata per la loro produzione (terreno in polvere Todd Hewitt Broth REF 402134) sono testati per la produttività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

La produttività del terreno è valutata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di diluizioni appropriate di ceppi target nelle provette, incubando a 35-37°C per 18-24 e registrando la diluizione più alta ove si osserva crescita, nel Lotto di Riferimento (Cr_{LR}) e nel lotto in esame (Cr_{LE}). La produttività è valutata con i seguenti ceppi: *S.pyogenes* ATCC 12834, *S.pyogenes* ATCC 19615, *S.pneumoniae* ATCC 6303, *E.faecalis* ATCC 19433, *S.salivarius* ATCC 7073, *S.bovis* ATCC 9809. L'indice di produttività ($Cr_{LR}-Cr_{LE}$) per ciascun ceppo è giudicato conforme quando è ≤ 1 .

12 - LIMITI DEL METODO

- Todd Hewitt Broth è un brodo di arricchimento: è necessaria il trapianto su terreni selettivi o non selettivi per l'isolamento e l'identificazione dei patogeni.
- Todd Hewitt Broth non può essere utilizzato per i test di solubilità della bile.
- Dopo crescita in Todd Hewitt Broth, anche se le colonie microbiche sulle piastre di isolamento sono differenziate in base alle loro caratteristiche morfologiche e cromatiche, si raccomanda di eseguire test biochimici, immunologici, molecolari o di spettrometria di massa sui ceppi isolati in coltura pura, per una loro completa identificazione. Se pertinente, eseguire test di sensibilità antimicrobica.
- Il terreno qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati dei test microscopici e/o di altri test diagnostici.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni d'uso specifiche per i prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- La singola provetta del prodotto qui descritto è monouso. Non suddividere il prodotto in altri contenitori.
- Fare attenzione quando si aprono le provette con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Il prodotto qui descritto è soggetto a sterilizzazione terminale in autoclave a vapore.
- Sterilizzare le provette dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire le provette non utilizzate e le provette seminate con i campioni o con i ceppi di controllo in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Comunicare a Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) ed alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione all'uso del diagnostico *in vitro*
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare le provette oltre la data di scadenza. Dopo l'apertura della scatola, le provette possono essere utilizzate fino alla data di scadenza. Le provette aperte devono essere utilizzate immediatamente. Prima dell'uso verificare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Non utilizzare le provette se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione microbica, sedimenti, colore alterato).

15 - BIBLIOGRAFIA

1. Todd EW, Hewitt LF. A new culture medium for the production of antigenic streptococcal hemolysin. J Pathol Bacteriol 1932; 35:973
2. Updyke EL, Nickle MI. A dehydrated medium for the preparation of type specific extracts of group A streptococci. Appl Microbiol 1954; 2:117
3. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985
4. Spellenberg B, Brandt B, Sendi P. Streptococcus. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.





TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Non riutilizzare	 Imballaggio riciclabile  Lato superiore
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le istruzioni per l'Uso	 Utilizzare entro	 Fragile maneggiare con cura	 Proteggere dalla luce diretta

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	05/2021
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 3	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.