



BBL Trypticase Soy Agar



L007516 • Rev. 11 • Setembro 2014

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE

I INTRODUÇÃO

O **Trypticase** Soy Agar é um meio de utilização geral que sustenta o crescimento de microrganismos exigentes, bem como de microrganismos não exigentes.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Liquefaça o meio nos tubos, aquecendo-os em água a ferver. Arrefeça até 45 a 50°C, adicione 1 mL de sangue ovino desfibrinado estéril a dois tubos (para inoculação com estirpes de *Streptococcus*) e verta para placas de Petri estéreis. Misture bem para distribuir uniformemente o sangue por todo o meio e deixe solidificar durante um período mínimo de 30 min.
2. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Com uma ansa calibrada de 0,01 mL, inocule as superfícies do ágar utilizando diluições de 10^{-1} de culturas em **Trypticase** Soy Broth com 18 a 24 h. Inocule as placas, fazendo riscas sobre o ágar, para garantir a presença de colónias de bem isoladas.
 - b. Incube as placas ou os tubos com ágar inclinado (com tampas desapertadas) a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, numa atmosfera aeróbia. As placas com sangue devem ser incubadas na presença de dióxido de carbono.
3. Examine as placas ou os tubos após 18 a 24 h e 42 a 48 h, verificando se ocorreu crescimento e pigmentação. Examine as placas de ágar de sangue, verificando se ocorreu hemólise.
4. Resultados esperados

Meio sem adição de sangue.

**Shigella flexneri*
ATCC 12022

Crescimento. Colónias médias a grandes, de cor branca acinzentada, translúcidas, ligeiramente convexas; podem ser mucóides.

**Escherichia coli*
ATCC 25922

Crescimento

**Staphylococcus aureus*
ATCC 25923

Crescimento. Colónias médias a grandes, opacas, circulares, regulares com pigmento bege-amarelado a dourado.

Meio com adição de sangue ovino desfibrinado estéril (tubos de meio).

**Streptococcus pneumoniae*
ATCC 6305

Crescimento. Colónias rodeadas por áreas de alfa-hemólise (verde).

**Streptococcus pyogenes*
ATCC 19615

Crescimento. Colónias rodeadas por áreas de beta-hemólise (transparente a esbatida).

*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os tubos, conforme descrito na secção "Deterioração do produto".
2. Examine visualmente os tubos representativos, para assegurar que eventuais defeitos físicos não irão interferir com a utilização.
3. Determine o pH, através de potenciometria, à temperatura ambiente, para cumprimento da especificação de pH de $7,3 \pm 0,2$.
4. Incube os tubos representativos não inoculados entre 20 a 25°C e 30 a 35°C e examine-os após 7 dias, verificando se existe contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **Trypticase Soy Agar** é utilizado para isolamento e cultura de microrganismos exigentes e não exigentes, incluindo bactérias aeróbias e anaeróbias, apesar de não ser um meio de escolha para anaeróbios.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

A composição nutricional do **Trypticase Soy Agar** tornou-o um meio popular desde há muitos anos. É o meio especificado como Meio de ágar de soja digerida por caseína em *The United States Pharmacopeia*, para a contagem microbiana de aeróbios totais dos procedimentos de teste do limite microbiano.¹

O meio é utilizado para inúmeros fins, incluindo a manutenção de culturas de reserva, a contagem em placa, o isolamento de microrganismos a partir de vários tipos de amostras e como base para meios com sangue.²⁻⁴ Está incluído no compêndio de métodos para análise da água, águas residuais e alimentos.^{5,6}

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

A combinação da caseína com as peptonas de soja no **Trypticase Soy Agar** torna o meio altamente nutritivo através do fornecimento de nitrogénio orgânico, especialmente de aminoácidos e peptídeos com cadeias maiores. O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico.

VII REAGENTES

Trypticase Soy Agar

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Digerido pancreático de caseína	15,0	g
Digerido de soja por papaína	5,0	g
Cloreto de sódio	5,0	g
Ágar	15,0	g

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Os tubos com tampas apertadas devem ser abertos com cuidado, para evitar lesões devido a quebra do vidro.

Nas amostras podem existir microorganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"⁷⁻¹⁰ e as linhas de orientação da instituição. Após a utilização e antes de serem eliminados, esterilize em autoclave os tubos preparados, recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

Instruções de armazenamento

Após a receção, armazenar os tubos em local escuro entre 2 e 25°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. Os tubos com meio que forem armazenados conforme indicado no rótulo até ao momento imediatamente anterior à sua utilização, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante os períodos de incubação recomendados. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto

Não utilizar tubos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secagem ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser preparadas utilizando várias técnicas. Para obter informações pormenorizadas, consulte os textos apropriados.^{3,11} As amostras devem ser obtidas

antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido

Trypticase Soy Agar

Material necessário mas não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento do teste

Utilize técnicas assépticas.

Liquefaça o meio nos tubos, aquecendo-os em água a ferver. Arrefeça até 45 a 50°C, adicione sangue se necessário e verta para placas de Petri estéreis.

Para utilização geral, semeie a amostra, fazendo riscas sobre o ágar, o mais rapidamente possível após a recepção no laboratório. Esta placa é utilizada principalmente para isolar culturas puras de amostras que contenham flora mista. Em alternativa, se o material for cultivado directamente a partir de uma zaragatoa, rode a zaragatoa sobre uma pequena área da superfície no bordo; em seguida, faça riscas a partir desta área inoculada. Uma vez que muitos agentes patogénicos requerem dióxido de carbono no isolamento primário, as placas podem ser incubadas numa atmosfera contendo CO₂ entre 3 e 10%. Incube as placas a 35 ± 2°C durante 18 a 24 h.

Os tubos com ágar inclinado de **Trypticase** Soy Agar são utilizados principalmente para o crescimento e manutenção de culturas puras. Devem ser inoculados com uma ansa de inoculação e incubados nas mesmas condições referidas para o meio em placa.

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação europeus e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as normas do CLSI e os regulamentos da CLIA que dizem respeito a este assunto, para obter orientações sobre práticas de controlo de qualidade apropriadas.

X RESULTADOS

Após a incubação, a maioria das placas mostrará uma área de crescimento confluenta. Devido ao facto de o procedimento de sementeira com riscas sobre o ágar ser, na realidade, uma técnica de "diluição", é depositado um número diminuto de microrganismos nas áreas com riscas.

Consequentemente, uma ou mais destas áreas deve exibir colónias isoladas dos microrganismos presentes na amostra. Mais ainda, o crescimento de cada um dos microrganismos poderá ser avaliado de forma semi-quantitativa com base no crescimento de cada uma das áreas com riscas.

Para os microrganismos inoculados em meios com sangue, deve-se ter atenção às reacções hemolíticas.

Os tubos com ágar inclinado contendo culturas puras podem ser utilizados para outros estudos ou como culturas de reserva, se desejar.

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Para a identificação, os microrganismos devem ser uma cultura pura. Para uma identificação final, devem ser efectuados testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.^{3,11,12}

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

O **Trypticase** Soy Agar (TSA) with 5% Sheep Blood foi usado como controlo num estudo que utilizou uma cultura optimizada em meio líquido (Todd Hewitt) e o método de Imunoensaio Óptico, para diagnóstico da infecção por estreptococos β-hemolíticos. Foram testadas quinhentas e duas (502) amostras. O TSA with 5% Sheep Blood teve uma sensibilidade e uma especificidade de 92,5% e 99,4%, respectivamente.¹³ Nguyen et al. utilizaram **Trypticase** Soy Agar with 5%

Sheep Blood como "referência" para da detecção de *Streptococcus* do grupo B no tracto genital inferior de mulheres grávidas.¹⁴ Noutro estudo, Rossmann et al. isolaram com sucesso *Lautropia mirabilis* em **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood, a partir das cavidades orais de crianças infectadas com o vírus da imunodeficiência.¹⁵ Das 85 crianças avaliadas neste estudo, 35 (41,4%) foram positivas para

L. mirabilis. Isenberg et al. utilizaram **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood como um controlo para avaliar o isolamento de *Enterococcus* a partir do meio selectivo em estudo.¹⁶ Foram utilizadas duzentas e cinquenta (250) estirpes de estreptococos do grupo D, a partir de material clínico, e 8 estirpes obtidas a partir do *National Communicable Disease Center* (Atlanta). Kantor et al. mantiveram culturas de reserva à temperatura ambiente utilizando **Trypticase** Soy Agar inclinado coberto com óleo mineral estéril, para um estudo sobre a identificação de bactérias Gram-negativas no laboratório clínico.¹⁷

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat.	Descrição
221082	BD BBL Trypticase Soy Agar Deepes (Pour Tubes), 20 mL, emb. de 10 tubos A
221086	BD BBL Trypticase Soy Agar Slants, emb. de 10 tubos K
221087	BD BBL Trypticase Soy Agar Slants, caixa de 10 tubos K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2006. The U.S. pharmacopeia 29/The national formulary 24-2006. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. Chapin, K.C., and P.R. Murray. 1999. Media, p. 1687-1707. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Clesceri, L.S., A.E. Greenberg, and A.D. Eaton (ed.) 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. Downes, F.P. and K. Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Fries, S.M. 1995. Diagnosis of group A streptococcal pharyngitis in a private clinic: comparative evaluation of an optical immunoassay method and culture. J. Ped. vol. 126, number 6.
14. Nguyen, T.M. et al. 1998. Detection of group B streptococcus: comparison of an optical immunoassay with direct plating and broth-enhanced culture methods. J. Matern. Fetal. Med. Jul-Aug; 7(4):172-176.
15. Rossmann, S.N. et al. 1998. Isolation of *Lautropia mirabilis* from oral cavities of human immunodeficiency virus infected children. J. Clin. Microbiol. 36:1756-1760.
16. Isenberg, H.D., D. Goldberg, and J. Sampson. 1970. Laboratory studies with a selective medium. Appl. Microbiol. Sept. 1970, p.433-436.
17. Kantor, L.T., D.K. Spyros, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. Amer. J. Med. Tech. vol. 41, no. 1.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou visite 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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.