

## BD TCBS Agar

### USO PREVISTO

**BD TCBS Agar** (agar TCBS: tiosolfato-citrato-bile-saccarosio) è un terreno differenziale selettivo per l'isolamento e la coltura di *Vibrio cholerae* e altre *Vibrio* spp. da campioni clinici e altri materiali.

### PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

I *Vibrio* risiedono naturalmente nelle acque salmastre e salate di tutto il mondo.<sup>1,2</sup> Alcune patologie intestinali dell'uomo sono riconducibili al consumo di acqua contaminata, molluschi o altre specie ittiche. *Vibrio cholerae* è l'agente eziologico di una diarrea secretoria (colera) che viene diffuso per ingestione di acqua, alimenti contaminati e per via fecale-orale.<sup>2</sup> Numerose *Vibrio* spp., ad es. *V. parahaemolyticus* e *V. fluvialis*, sono anche responsabili di gastroenterite acuta. Inoltre, diverse *Vibrio* spp., ad es. *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* e *V. damsela*, sono associate a infezioni extraintestinali, come infezioni da ferite, setticemia, meningite e altre.<sup>1,3</sup> Nelle infezioni da ferite si osservano *Vibrio* specialmente se i pazienti sono entrati in contatto con acque salate o salmastre.<sup>2,3</sup>

**BD TCBS Agar**, allestito secondo la formula di Kobayashi *et al.*, è una modifica del terreno selettivo di Nakanishi.<sup>4,5</sup> Su questo terreno crescono tutte le *Vibrio* spp. patogene per l'uomo, eccetto *V. hollisae*. Il campione è ideale per l'isolamento di *Vibrio* spp. da campioni di feci<sup>1,2,6</sup> e figura tra le tecniche standard per le analisi degli alimenti.<sup>7,8</sup> Il terreno, inoltre, è altamente selettivo, soddisfa il fabbisogno nutritivo delle *Vibrio* spp. e consente ai *Vibrio* di competere con la flora intestinale. Le specie appartenenti a questo genere possono crescere su terreni ad alta concentrazione salina e alcune di esse sono alofile.<sup>6</sup>

**BD TCBS Agar** contiene azoto e vitamine forniti da estratto di lievito e peptone. Citrato di sodio, tiosolfato di sodio, bile bovina e colato sono agenti selettivi che, creando un pH alcalino, inibiscono gli organismi Gram-positivi e sopprimono i coliformi. Si aumenta il pH del terreno per stimolare la crescita di *Vibrio cholerae*, perché questo microorganismo è sensibile agli ambienti acidi. L'elevata concentrazione di sodio favorisce la crescita di *Vibrio cholerae*, che è alotollerante, e di altre *Vibrio* spp., che sono prevalentemente alofile. Il saccarosio è un carboidrato fermentabile, mentre il cloruro di sodio viene aggiunto per stimolare la crescita. Il tiosolfato di sodio è una fonte di zolfo e interagisce con il citrato ferrico per indicare la produzione di solfuro di idrogeno. Il blu di bromotimolo e il blu di timolo sono indicatori di pH.

### REAGENTI

#### BD TCBS Agar

Formula\* per litro di acqua purificata

Estratto di lievito	5,0 g	Saccarosio	20,0 g
Digerito pancreatico di caseina	5,0	Cloruro di sodio	10,0
Digerito peptico di tessuto animale	5,0	Citrato ferrico	1,0
Citrato di sodio	10,0	Blu di bromotimolo	0,04
Tiosolfato di sodio	10,0	Blu di timolo	0,04
Bile bovina	5,0	Agar	14,0
Colato di sodio	3,0		

pH 8,6 ± 0,2

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

## PRECAUZIONI

**IVD** . Solo per uso professionale.

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazioni di colore, essiccamento, incrinature o altri segni di deterioramento.

Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

## CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

## CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare aerobicamente a 35 – 37 °C per 18 – 24 h.

Ceppi	Risultati della crescita
<i>V. cholerae</i> NCTC 8021 o ATCC 9459	Crescita da discreta a eccellente, colonie circondate da zone gialle
<i>V. parahaemolyticus</i> ATCC 17802	Crescita da discreta a eccellente, colonie da verdi a verdazzurre, terreno quasi inalterato
<i>V. alginolyticus</i> ATCC 17749	Crescita da discreta a eccellente, colonie circondate da zone gialle
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Inibizione da parziale a completa, colonie piccole e gialle
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Inibizione da parziale a completa, colonie piccole e traslucide
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	Inibizione da parziale a completa, colonie blu
Non inoculate	Da verdi a verdazzurre

## PROCEDURA

### Materiali forniti

**BD TCBS Agar** (piastre impilate **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

### Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

### Tipologia e trasporto dei campioni

Il terreno viene usato per l'isolamento di *Vibrio* spp. da campioni di feci (in particolare se i pazienti hanno consumato alimenti a base di pesce) o da campioni clinici extraintestinali se si sospetta la presenza di *Vibrio* spp. (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**). Come campioni si possono usare anche tamponi rettali, vomito e alimenti, specialmente se a base di pesce. Per il trasporto dei tamponi usare il terreno Cary-Blair perché *Vibrio* spp. sono particolarmente sensibili all'essiccamento.<sup>2</sup> Per evitare l'essiccamento dei materiali, mettere i campioni intestinali e quelli alimentari in provette con acqua peptonata alcalina e portarli in laboratorio quanto prima. Tempi di trasporto superiori a 8 h riducono la vitalità delle specie. Non congelare i campioni o i prelievi.

### Procedura del test

Strisciare il campione non appena consegnato in laboratorio su **BD TCBS Agar**, usando una tecnica approvata. Campioni e alimenti possono essere tamponati direttamente o previa accurata omogeneizzazione (specialmente quando viene analizzato un alimento a base di pesce). Evitare l'essiccamento dei materiali durante il trattamento. È preferibile aggiungere un terreno meno selettivo come **BD DCLS Agar**, che risulta più efficace dell'agar MacConkey per l'isolamento di *Vibrio* spp. Coltivare i campioni extraintestinali (ad es. campioni di ferite) anche

su un terreno agar sangue non selettivo, come **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, e su una piastra di **BD MacConkey II Agar**, per individuare altri patogeni eventualmente coinvolti nell'infezione. Incubare le piastre aerobicamente a 35 – 37 °C per 18 – 24 h. In caso di esito negativo, incubare per altre 18 – 24 h.

Se si sospetta una bassa conta di *Vibrio*, prelievi e campioni clinici possono essere arricchiti incubandone un certo quantitativo in acqua peptonata alcalina a 35 ± 2 °C.<sup>2,8</sup> Le subcolture vengono trasferite su agar TCBS e agar sangue dopo 8 e 18 h dall'incubazione.

### Risultati

Su **BD TCBS Agar**, i *Vibrio* che fermentano il saccarosio (*V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. cincinnatiensis*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. metschnikovii*) appaiono come colonie gialle, opache, lisce, di medie dimensioni. La maggior parte degli altri *Vibrio* clinicamente rilevanti, incluso *V. parahaemolyticus*, non fermenta il saccarosio e appare come colonie verdi.<sup>2</sup> Sono necessari ulteriori test biochimici e/o sierologici per identificare definitivamente e differenziare le specie fermentanti da quelle non fermentanti il saccarosio.<sup>1,2,7,8</sup>

### PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

**BD TCBS Agar** è un terreno standard per l'isolamento di *Vibrio cholerae* o altre *Vibrio* spp. da campioni di feci di pazienti colpiti da diarrea, specialmente dopo aver consumato alimenti a base di pesce, o se si sospetta un'epidemia di colera.<sup>1,2,6,7</sup> Il terreno può essere utilizzato anche per individuare i *Vibrio* nei campioni extraintestinali.

**BD TCBS Agar** è un terreno standard anche per l'isolamento di *Vibrio* dagli alimenti.<sup>8,9</sup>

Alcuni ceppi potrebbero svilupparsi con difficoltà su questo terreno perché il fabbisogno nutritivo dei microrganismi non è identico. Pertanto, è utile aggiungere anche terreni meno selettivi per rilevare la presenza di *Vibrio* spp. e altri patogeni intestinali (ad es. *Salmonella* e *Shigella*); a tal fine si consiglia di usare **BD DCLS Agar**.

Su **BD TCBS Agar**, *V. parahaemolyticus* può essere simile ad *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides* e *Pseudomonas* spp. *Proteus* spp. fermentanti il saccarosio producono colonie gialle che possono rassomigliare a quelle di *Vibrio*. Alcuni ceppi di *V. cholerae* appaiono verdi o incolore su **BD TCBS Agar** per ritardata fermentazione del saccarosio.

I terreni a base di TCBS sono inadatti per il test dell'ossidasi su *Vibrio* spp.<sup>2</sup>

Sono necessari ulteriori test per confermare e completare l'identificazione di *Vibrio* spp. isolate su questo terreno. Consultare la bibliografia.<sup>2,6-9</sup>

### BIBLIOGRAFIA

1. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. *Vibrio* and related species, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, and others, p. 429-444. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
2. Farmer III, J.J., J.M. Janda, and K. Birkhead. *Vibrio*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Tenover, and M. A. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Pavia, A.T., et al. 1989. *Vibrio carchariae* infection after a shark bite. Ann. Intern. Med. 111: 85-86.
4. Kobayashi, T., S. Enomoto, R. Sakazaki, and S. Kuwahara. 1963. A new selective medium for pathogenic vibrios, TCBS (modified Nakanishi's agar). Jpn. J. Bacteriol. 18:387.
5. Nakanishi, Y. 1963. An isolation agar medium for cholerae and enteropathogenic halophilic vibrios. Modern Media 9:246.
6. Grasmick, A. 1992. Processing and Interpretation of bacterial fecal cultures. In: Isenberg D (ed): Clinical microbiology procedures handbook, Volume 1. Aerobic bacteriology (section editor: Pezzlo M). pp. 1.10.1-1.10.21. American Society for Microbiology, Washington, DC.
7. Kist, M., et al. 2000. Infektionen des Darmes. In: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gatermann (eds.): MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 9. Urban & Fischer, Munich, Germany.
8. Association of Official Analytical Chemists. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.

9. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup> edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.

## **CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ**

### **BD TCBS Agar**

N. di cat. 254432

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

## **ULTERIORI INFORMAZIONI**

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



### **BD Diagnostic Systems**

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception\_Germany@europe.bd.com

### **BD Diagnostic Systems Europe**

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company