

**PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ****I INTRODUZIONE**

Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum è un brodo modificato con siero di cavallo al 5% usato per l'isolamento e la coltura delle specie *Trichomonas*.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare dei campioni rappresentativi con le colture sottoelencate.
 - a. Per *T. vaginalis*, inoculare direttamente da una coltura stock pura.
 - b. Per tutti gli altri organismi, inoculare 1 µL (0,001 mL) di una coltura di 4 – 5 h di **Trypticase Soy Broth (TSB)** diluito fino a $10^6 - 10^7$ UFC/mL.
 - c. Incubare a 35 ± 2 °C per 48 h in condizioni atmosferiche appropriate.
 - d. Includere provette di un lotto di TSB precedentemente testato, come controlli non selettivi.
2. Esaminare se le provette presentano crescita di *T. vaginalis*. Trascorse 48 h di incubazione, allestire una preparazione a fresco dalla provetta di *Trichomonas* ed esaminare al microscopio a bassa potenza per verificare se sono presenti protozoi flagellati. Se il risultato è negativo, incubare nuovamente per 24 h a 35 ± 2 °C e riesaminare.
3. Risultati attesi

Microrganismi	ATCC	Isolamento
<i>Candida albicans</i>	10231	Crescita lieve – intensa
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Inibizione (da parziale a completa)
* <i>Trichomonas vaginalis</i>	30001	Crescita moderata – intensa

*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 $6,0 \pm 0,2$.
4. Incubare a $30 - 35$ °C e $20 - 25$ °C per 72 h delle provette rappresentative non inoculate ed esaminarle per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO**IV USO PREVISTO**

Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum è un brodo modificato con siero di cavallo al 5% usato per l'isolamento e la coltura delle specie *Trichomonas*.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

BBL Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum è una versione modificata del terreno **Simplified Trypticase Serum (STS)** di Kupferberg et al. per la coltura di *Trichomonas* spp.¹ La formula classica è stata modificata aggiungendo estratto di carne bovina, siero di cavallo e una quantità maggiore di lievito per migliorare le prestazioni. Il cloramfenicolo, un antibiotico relativamente stabile, sostituisce la penicillina e la streptomina raccomandate per l'aggiunta alla base STS.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

BBL Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum contiene peptone di caseina, cisteina, estratto di carne bovina ed estratto di lievito come fonti di aminoacidi, azoto, zolfo, carbonio, vitamine e micronutrienti. Il maltosio è una fonte di energia per il metabolismo di microrganismi quali *Trichomonas* spp. Il cloramfenicolo è un antibiotico ad ampio spettro che inibisce una vasta gamma di batteri gram-positivi e gram-negativi. Il siero di cavallo contiene i fattori di crescita richiesti da *Trichomonas* spp.

VII REAGENTI**BBL Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum**

Formula approssimativa* in un l di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	12,0 g	Agar	1,0 g
Estratto di carne bovina	2,0 g	Cloramfenicolo	0,1 g
Estratto di lievito	5,0 g	Blu di metilene	3,0 mg
HCl L-cisteina	1,0 g	Siero di cavallo	5%
Maltosio	2,0 g		

*Formulazione aggiustata e/o supplementata per soddisfare i criteri prestazionali.

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 il 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".²⁻⁵ Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Modalità di conservazione: Fin dal 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 fino al momento dell'uso possono essere inoculati sino alla data di scadenza e incubati per i tempi raccomandati. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno sia a temperatura ambiente.

Deterioramento del prodotto: Non usare le provette se presentano evidenze di contaminazione microbica, alterazione di colore, precipitazione, evaporazione o altri segni di deterioramento.

VIII RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni idonei per coltura possono essere manipolati con varie tecniche. Per informazioni dettagliate, consultare la documentazione appropriata.^{6,7} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito: BBL Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum

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 aseptiche.

Inoculare i campioni sospettati di contenere microrganismi *Trichomonas* nel brodo di coltura usando tamponi contenenti il campione oppure metodiche alternative, come appropriato. Incubare le provette a 35 ± 2 °C in aerobiosi. Trascorse 48 h e quindi dopo 5 giorni di incubazione, allestire una preparazione a fresco dal brodo ed esaminare al microscopio a bassa potenza per verificare se sono presenti protozoi flagellati.

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 del laboratorio specifico. Consultare le linee guida CLSI e le norme CLIA in materia, per una corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità.

X RISULTATI

In caso di crescita di *Trichomonas* spp., all'esame al microscopio – a basso ingrandimento – di un'aliquota, nel brodo di coltura si potranno osservare microrganismi di morfologia tipica.

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Gli agenti in terreni selettivi possono inibire alcuni ceppi delle specie desiderate oppure consentire la crescita di una specie che avrebbero dovuto inibire, soprattutto se la specie è presente in grandi quantità nel campione.

XII CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

In uno studio, Dawson et al.⁸ hanno comparato sei metodiche per verificarne la capacità di rilevare *Trichomonas vaginalis* in 214 adolescenti sessualmente attive. Le sei metodiche analizzate sono state: brodo di coltura **BBL Trichosel**, coltura PEM-T (HDC Corp.), preparazione a fresco in soluzione fisiologica, colorazione con arancio di acridina, colorazione Diff-Quik (Dade) e strisci di Papanicolau. Il 25% dei 214 campioni analizzati per *T. vaginalis* è risultato positivo ad almeno una delle metodiche utilizzate.

La tabella seguente presenta le sensibilità e i valori predittivi negativi (VPN) ottenuti per le varie metodiche:

	Cultura Trichosel	Coltura PEM-T	Arancio acridina	Diff-Quik	Preparazione a fresco	Striscio PAP
Sensibilità	73,1%	40,5%	82,6%	78,3%	61,5%	65,8%
VPN	91,5%	84,1%	94,7%	93,4%	88,0%	86,7%

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat. **Descrizione**

298323 **BBL Trichosel** Broth, Modified, with 5% Horse Serum, confezione da 10 provette.

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Kupferberg, A.B., G. Johnson, and H. Sprince. 1948. Nutritional requirements of *Trichomonas vaginalis*. Proc Soc. Exp. Biol. Med. 67:304-308.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
3. 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.
4. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

5. 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.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1999. Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis
8. Dawson, M.S., R. Mraz, B.K. Garner, R. Brookman and H.P. Dalton. 1985. Comparison of diagnostic tests for the detection of *Trichomonas vaginalis* in clinical specimens. Abstr. C-16, p. 302. Abstr. 85th General Meeting of the American Society for Microbiology. 1985.

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds

 Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, BBL, Trichosel and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2013 BD.