



BBL Trypticase Soy Agar



L007516 • Rev. 11 • Settembre 2014

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

Trypticase Soy Agar è un supporto generico che sostiene la crescita di microrganismi esigenti e non esigenti.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Sciogliere il supporto sul fondo della provetta riscaldando in acqua bollente. Raffreddare fino a 45 – 50 °C, aggiungere 1 mL di sangue ovino sterile defibrinato in due provette (per l'inoculazione con ceppi di streptococco) e versare in piastre di Petri sterili. Miscelare bene per distribuire uniformemente il sangue nel supporto e far solidificare per almeno 30 min.
2. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - a. Con l'ausilio di un'ansa calibrata da 0,01 mL, inoculare le superfici di agar usando diluizioni 10^{-1} di colture di 18 – 24 h di **Trypticase** Soy Broth. Inoculare per striscio le piastre per garantire la presenza di colonie ben isolate.
 - b. Incubare le provette o gli slant in provetta (con i tappi non completamente avvitati) a 35 ± 2 °C in atmosfera aerobica. Le piastre di sangue devono essere incubate in presenza di biossido di carbonio.

3. Esaminare l'aliquota di crescita e pigmentazione nelle piastre o nelle provette dopo 18 – 24 e 42 – 48 h. Esaminare l'emolisi nelle piastre di agar sangue.

4. Risultati attesi

Supporto senza aggiunta di sangue.

**Shigella flexneri* ATCC 12022 Crescita. Colonie da medie a grandi, color bianco-grigiastro, traslucide, leggermente convesse e possibilmente mucoidi.

**Escherichia coli* ATCC 25922 Crescita

**Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Crescita. Colonie da medie a grandi, opache, circolari, completamente pigmentate di colore da giallo crema a dorato.

Supporto con l'aggiunta di sangue ovino sterile defibrinato (fondo in provetta).

**Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 Crescita. Colonie circondate da zone di alfa emolisi (verde).

**Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 Crescita. Colonie circondate da zone di beta emolisi (da trasparente ad opaco).

*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 $7,3 \pm 0,2$.
4. 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

Trypticase Soy Agar viene utilizzato per l'isolamento e la coltivazione di microrganismi esigenti e non esigenti, tra cui batteri aerobici ed anaerobici, sebbene non si tratti del supporto adatto per anaerobi.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La composizione nutrizionale di **Trypticase Soy Agar** ne ha fatto un supporto diffuso per diversi anni. È il supporto specificato come Soybean-Casein Digest Agar Medium in *The United States Pharmacopeia* (farmacopea degli Stati Uniti) per la parte di conteggio degli aerobi totali delle procedure di prova del limite microbico.¹

Il supporto viene utilizzato per una varietà di scopi tra cui il mantenimento di colture di provvista, la conta delle piastre, l'isolamento di microrganismi da una varietà di tipi di campioni e come base per i supporti contenenti sangue.²⁻⁴ Viene incluso nei compendi dei metodi di indagine su acque, acque di scarico e alimenti.^{5,6}

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

La combinazione di caseina e peptoni di soia nel **Trypticase Soy Agar** aumenta le capacità nutritive del supporto fornendo nitrogeno organico, in particolare amminoacidi e peptidi a catena lunga. Il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico.

VII REAGENTI

Trypticase Soy Agar

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	15,0	g
Digerito papainico di farina di soia	5,0	g
Cloruro di sodio	5,0	g
Agar	15,0	g

*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".⁷⁻¹⁰ 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 – 25 °C. Evitare di congelare e surriscaldare. 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 specifiche, consultare i testi opportuni.^{3,11} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

Trypticase Soy Agar

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.

Sciogliere il supporto sul fondo della provetta riscaldando in acqua bollente. Raffreddare fino a 45 – 50 °C, aggiungere sangue se lo si desidera, e versare in piastre di Petri sterili.

Per uso generico, strisciare il campione non appena possibile dopo il ricevimento in laboratorio. La piastra di striscio viene utilizzata principalmente per isolare colture pure da campioni contenenti diverse varietà di flora. In alternativa, se il materiale viene coltivato direttamente da tampone, passare il tampone su una piccola area della superficie alla sommità; poi strisciare da quest'area inoculata. Considerato che molti patogeni necessitano di biossido di carbonio sull'isolamento primario, sarà necessario incubare le piastre in atmosfera contenente circa 3 – 10% di CO₂. Incubare le piastre a 35 ± 2 °C per 18 – 24 h.

Gli slant in provetta di **Trypticase** Soy Agar vengono utilizzati principalmente per la coltivazione ed il mantenimento di colture pure. È necessario inocularle con un'ansa da inoculazione ed incubarle nelle medesime condizioni del supporto su piastra.

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.

X RISULTATI

Dopo l'incubazione, molte piastre mostreranno un'area di crescita confluyente. Dato che la procedura di striscio non è altro che una tecnica di "diluizione", sulle aree strisciate viene depositato un numero decrescente di microrganismi. Di conseguenza, una o più di queste aree mostrerà colonie isolate degli organismi contenuti nel campione. Inoltre, la crescita di ogni organismo può essere valutata in modo semi-quantitativo sulla base della crescita in ogni area strisciata.

È necessario osservare le reazioni emolitiche degli organismi inoculati sul supporto contenente sangue.

Gli slant in provetta contenenti colture pure possono essere utilizzati per studi aggiuntivi o come colture di prova.

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.^{3,11,12}

XII PERFORMANCE

Trypticase Soy Agar (TSA) con il 5% di sangue ovino è stato utilizzato come controllo in uno studio che utilizzava colture arricchite con brodo (Todd Hewitt) ed il metodo del dosaggio immunologico ottico per la diagnosi di infezioni da streptococco β-emolitiche. Sono stati testati cinquecentodieci (502) campioni. TSA con il 5% di sangue ovino ha avuto una sensibilità ed una specificità rispettivamente del 92,5% e 99,4%.¹³ Nguyen et al. hanno utilizzato **Trypticase** Soy Agar con il 5% di sangue ovino come "standard privilegiato" per il rilevamento di *Streptococcus* di gruppo B dal tratto genitale inferiore di donne gravide.¹⁴ In un altro studio, Rossmann et al. hanno isolato nuovamente con successo *Lautropia mirabilis* su **Trypticase** Soy Agar con il 5% di sangue ovino dalle cavità orali di bambini affetti dal virus dell'immunodeficienza umana.¹⁵ Degli 85 bambini considerati in questo studio, 35 (41,4%) erano positivi a *L. mirabilis*. Isenberg et al. hanno utilizzato **Trypticase** Soy Agar con il 5% di sangue ovino come controllo per la valutazione del recupero di *Enterococcus* da un supporto selettivo in studio.¹⁶ Sono stati utilizzati duecentocinquanta (250) ceppi di streptococco di gruppo D isolati da materiale clinico e 8 ceppi ottenuti dal National Communicable Disease Center (Atlanta, Ga.). Kantor et al. hanno conservato colture di provvista a temperatura ambiente utilizzando slant di **Trypticase** Soy Agar coperti di olio minerale sterile per uno studio sull'identificazione di batteri gram-negativi non fermentanti nel laboratorio clinico.¹⁷

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

- 221082 **BD BBL Trypticase** Soy Agar Deeps (Pour Tubes), 20 mL, confezione da 10 provette di misura A
- 221086 **BD BBL Trypticase** Soy Agar Slants, confezione da 10 provette di misura K
- 221087 **BD BBL Trypticase** Soy Agar Slants, scatola da 100 provette di misura 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.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito 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.