



BBL TSI Agar Slants

L007520 • Rev. 10 • ottobre 2015



PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ (Facoltativo)

I INTRODUZIONE

BBL TSI Agar (agar ferro tre zuccheri **BBL**) è un terreno per la differenziazione dei microrganismi enterici gram-negativi in base alla capacità di fermentare destrosio, lattosio e saccarosio e produrre solfuri.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - a. Con l'ausilio di un ago da inoculo, inoculare le provette penetrando in profondità e strisciando avanti e indietro lungo la superficie dello slant usando colture slant di 18 – 24 h in **Trypticase Soy Agar**.
 - b. Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a 35 ± 2 °C in aerobiosi.
2. Esaminare le provette dopo 18 – 24 h per verificare la crescita e le reazioni.
3. Risultati attesi

	Slant	Fondo	Gas	H ₂ S
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Acida	Acida	+	–
* <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> sierotipo Typhimurium ATCC 14028	Alcalina	Acida	+/-	+
* <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Alcalina	Acida	–	–
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Alcalina	Alcalina	–	–

*Ceppo batterico raccomandato per il controllo di qualità a cura dell'utente.

NOTA: Questo terreno è esente dai test di controllo qualità a cura dell'utente ai sensi della norma CLSI M22-A3.

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

BBL TSI Agar è usato per la differenziazione di bacilli enterici gram-negativi in base alla fermentazione di carboidrati e alla produzione di acido solfidrico.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

L'agar TSI è usato per determinare la fermentazione dei carboidrati e la produzione di acido solfidrico nell'identificazione di bacilli gram-negativi.^{1,2}

Hajna ha sviluppato la formulazione dell'agar TSI aggiungendo saccarosio alla formulazione a due zuccheri (destrosio e lattosio) dell'agar ferro Kligler.³ L'aggiunta di saccarosio ha aumentato la sensibilità del terreno, facilitando la rilevazione dei bacilli fermentanti il saccarosio nonché di quelli fermentanti il lattosio e/o il destrosio.

La fermentazione dei carboidrati è evidenziata dalla presenza di gas e dal visibile viraggio (dal rosso al giallo) dell'indicatore di pH, rosso fenolo. La produzione di acido solfidrico è indicata dalla presenza di un precipitato che annerisce il terreno sul fondo della provetta.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

L'agar TSI contiene tre zuccheri (destrosio, lattosio e saccarosio), rosso fenolo per rilevare la fermentazione dei carboidrati e solfato ferroso per rilevare la produzione di acido solfidrico (indicata dall'annerimento del terreno sul fondo della provetta).

La fermentazione dei carboidrati è indicata dalla produzione di gas e dal viraggio dal rosso al giallo dell'indicatore di pH. Per facilitare la rilevazione dei microrganismi che fermentano soltanto il destrosio, la concentrazione di quest'ultimo è pari a un decimo di quella del lattosio o del saccarosio. La ridotta quantità di acido prodotta nello slant della provetta durante la fermentazione del destrosio, si ossida rapidamente facendo sì che il terreno rimanga rosso o si riporti su un pH alcalino. Per contro, la reazione acida (gialla) sul fondo della provetta permane perché è sotto una tensione di ossigeno inferiore.

Dopo la deplezione della limitata quantità di destrosio, i microrganismi che ne sono in grado iniziano a utilizzare il lattosio o il saccarosio.⁴

Per migliorare la condizione alcalina dello slant, consentire il libero scambio di aria non chiudendo completamente la provetta. Se la provetta viene perfettamente sigillata, la reazione acida (causata soltanto dalla fermentazione del destrosio) interesserà anche lo slant.

VII REAGENTI

BBL TSI Agar

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	10,0	g
Digerito peptico di tessuto animale	10,0	g
Cloruro di sodio	5,0	g
Lattosio	10,0	g
Saccarosio	10,0	g
Destrosio	1,0	g
Solfato ferroso di ammonio	0,2	g
Tiosolfato di sodio	0,2	g
Rosso fenolo	0,025	g
Agar	13,0	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.

Durante tutte le procedure, seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Istruzioni per la conservazione

Al 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 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 dettagliate, consultare la documentazione appropriata.^{2,5} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

BBL TSI Agar Slants

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.

Per inoculare, toccare con attenzione soltanto il centro di una colonia isolata su un terreno enterico in piastra, usando un ago freddo sterile, penetrare quindi nel terreno sul fondo della provetta e poi strisciare avanti e indietro lungo la superficie dello slant. Studiare separatamente numerose colonie da ogni piastra primaria, in quanto si possono verificare infezioni miste.

Incubare le provette, con i tappi non completamente avvitati, a 35 °C ed esaminarle dopo 18 – 24 h per verificare fermentazione dei carboidrati, produzione di gas e produzione di acido solfidrico. È possibile osservare una qualsiasi di queste reazioni. Non incubare per più di 24 h perché la reazione acida nello slant dei microrganismi fermentanti lattosio e saccarosio può trasformarsi in una reazione alcalina.

Controllo di qualità a cura dell'utente

Vedere "Procedure di controllo di qualità".

Ciascun lotto di terreno è stato testato utilizzando organismi per il controllo di qualità appropriati, e tali test soddisfano le specifiche di prodotto e gli standard CLSI, ove opportuno. Come di consueto, i test di controllo qualità devono essere eseguiti in ottemperanza alle normative locali, statali, federali o nazionali vigenti, nonché ai requisiti di certificazione e/o alle procedure standard di controllo di qualità del laboratorio specifico.

X RISULTATI

Comparare le reazioni prodotte dagli isolati sconosciuti a quelle prodotte dai microrganismi di controllo conosciuti.

La fermentazione dei carboidrati è indicata dalla colorazione gialla del terreno. Se il terreno sul fondo della provetta diventa giallo (acido), ma quello nello slant diventa rosso (alcalino), il microrganismo testato fermenta soltanto il destrosio (glucosio).

La colorazione gialla (acida) nello slant e sul fondo indica che il microrganismo testato fermenta destrosio, lattosio e/o saccarosio.

La colorazione rossa (alcalina) nello slant e sul fondo indica che il microrganismo testato è non fermentante.

La produzione di acido solfidrico sviluppa un precipitato nero sul fondo della provetta.

La produzione di gas è indicata dalla scissione e screpolatura del terreno.

Per ulteriori informazioni, consultare la documentazione appropriata.^{2,5-7}

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Alcuni microrganismi possono evidenziare produzione di acido solfidrico su agar ferro Kligler, ma non su agar TSI perché l'utilizzo del saccarosio in quest'ultimo sopprime il meccanismo enzimatico che determina la produzione di H₂S. In particolare, le specie di *Salmonella* produttrici di H₂S e alcuni membri della famiglia delle *Enterobacteriaceae* possono non essere H₂S-positivi su agar TSI.¹

Come con l'agar ferro Kligler, i microrganismi produttori di acido solfidrico su agar TSI possono generare una quantità di precipitato nero, solfuro ferroso, tale da mascherare completamente l'acidità generata nel fondo. Se l'H₂S viene ridotto, esiste tuttavia una condizione acida nel fondo, anche se non osservabile, che deve essere registrata come tale.¹

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.^{2,5-7}

XII PERFORMANCE

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di slant TSI Agar. Campioni rappresentativi del lotto vengono testati con colture in **Trypticase** Soy Agar di *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028) e *Shigella flexneri* (ATCC 12022), strisciando lo slant e penetrando in profondità con un ago da inoculo. Le provette vengono incubate con i tappi non completamente avvitati a 35 ± 2 °C ed

esaminate dopo 18 – 24 h per verificare la crescita e le reazioni. La crescita di tutti i microrganismi è moderata – intensa. Lo slant della provetta inoculata con *E. coli* presenta una reazione acida, mentre gli slant di tutte le altre provette inoculate sono alcalini. *S. flexneri* produce una reazione acida nel fondo e *P. aeruginosa* una reazione alcalina. *E. coli* produce a sua volta acido e gas nel fondo. *Salmonella* Typhimurium produce una reazione acida nel fondo con annerimento del terreno; può essere presente gas.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
------------	-------------

221038	BD BBL TSI Agar Slants, confezione da 10 provette di misura K
--------	---

221039	BD BBL TSI Agar Slants, cartone da 100 provette di misura K
--------	---

XIV BIBLIOGRAFIA

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
3. Hajna, A.A. 1945. Triple-sugar iron agar medium for the identification of the intestinal group of bacteria. J. Bacteriol. 49:516-517.
4. Baron, E.J., L.R. Peterson and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc.
5. 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.
6. Ewing, W.H. 1985. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
7. 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.

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, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD