

# VALUTAZIONE DEI DISPOSITIVI SIGMA TRANSWAB® DI RACCOLTA E TRASPORTO CAMPIONI CON SPECIALE TAMPONE DI PRELIEVO IN SCHIUMA POLIURETANO E TERRENO LIQUIDO UTILIZZANDO METODICA DI ELUIZIONE E ROLL PLATE SECONDO LINEE GUIDA CLSI M40-A2



E. Adukwu\* and N.Gizzie

\*Emmanuel.Adukwu@uwe.ac.uk

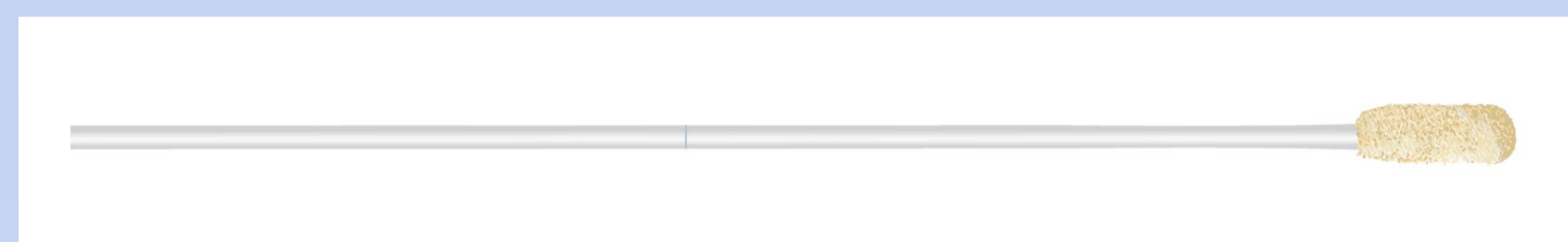


Faculty of Applied Sciences, University of the West of England, Bristol, United Kingdom

## Introduzione

Tamponi di trasporto sono componenti critici della fase pre-analitica di trattamento dei campioni microbiologici. E' essenziale che il sistema di trasporto tampone (STT) sia perfettamente in grado di mantenere tutti i microrganismi bersaglio in una condizione di vitalità fintanto che non vengono processati in laboratorio. La linea guida "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2014. Quality control of microbiological transport systems; approved standard M40-A2", è diventata il punto di riferimento internazionale per valutare le prestazioni dei STT.

Sigma-Transwab® è un tampone con terreno di trasporto liquido progettato per l'utilizzo su piattaforme automatizzate per l'analisi dei campioni. Il Sigma Transwab® si caratterizza per lo speciale tampone di prelievo in schiuma poliuretano a celle aperte con elevato potere assorbente e di rilascio dei microorganismi nella fase liquida.



Lo standard CLSI M40-A2 include due metodi di prova, uno quantitativo per eluizione del tampone e uno qualitativo per Roll plate.

Il nuovo standard raccomanda inoltre che vengano utilizzati sia il metodo quantitativo che qualitativo durante i test che prevedono l'impiego di tamponi in spugna o floccati in associazione a mezzi di trasporto liquido; la loro versatilità permette l'utilizzo sia per inoculo diretto con tampone su agar o del terreno liquido utilizzato sistemi automatici. L'utilizzo di entrambi i metodi quantitativo e qualitativo garantisce prestazioni affidabili in condizioni d'uso di laboratorio e una accurata sensibilità.

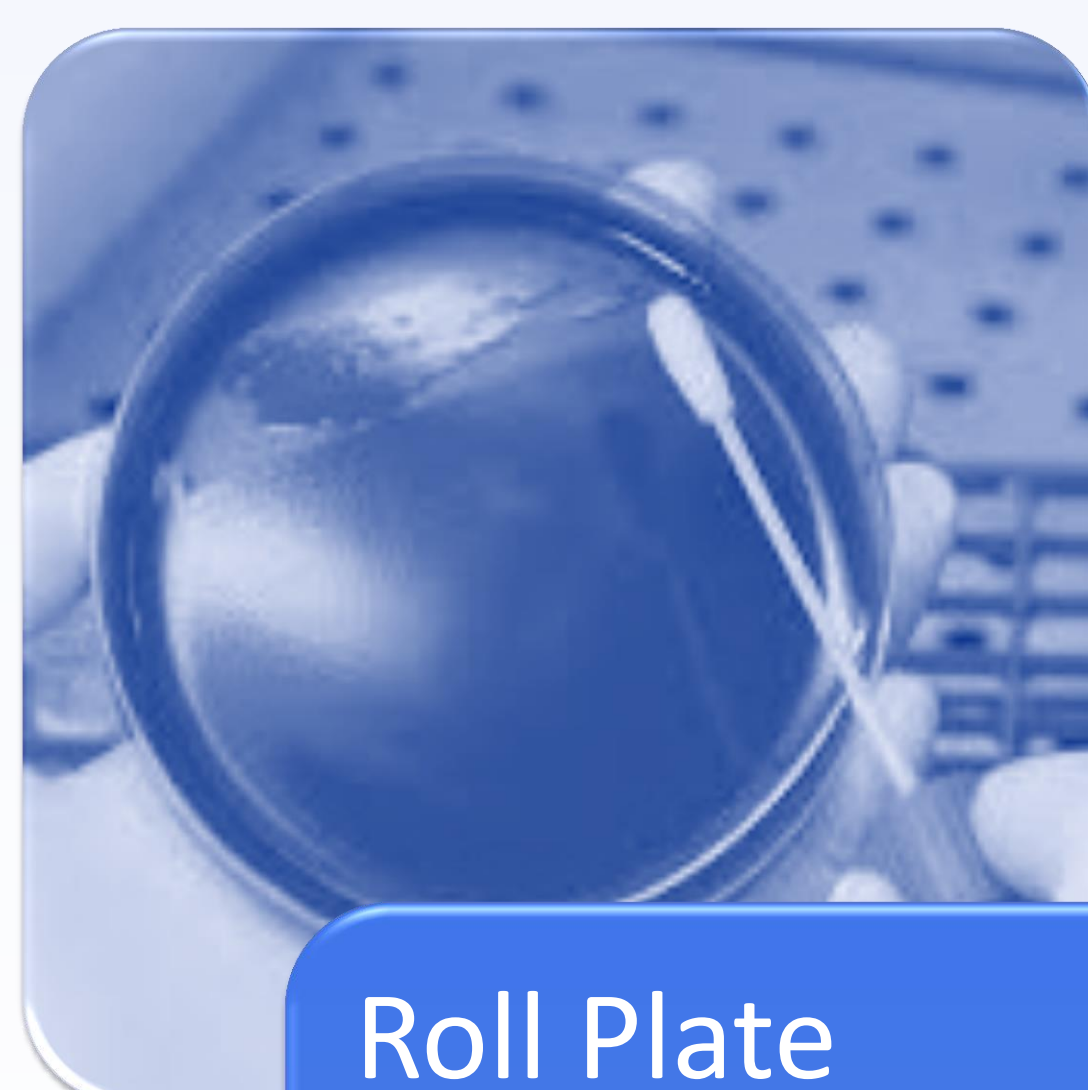
In questo studio, la è stata valutata la vitalità dei dieci batteri M40-A2 utilizzando il Sigma-Transwab® con il (Roll plate) qualitativa e metodo quantitativo (eluizione del tampone) in accordo con gli standard CLSI M40-A2.

## Metodi

Tabella 1 Condizioni di crescita per gli organismi testati previsti dal M40-A2

Organismi testati previsti dal M40-A2	Atmosfera	Terreni	Tempo di incubazione (ore)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC BAA-427	Aerobico	TSA	48
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	5% CO <sub>2</sub>	CBA	48
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	5% CO <sub>2</sub>	CBA	48
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	5% CO <sub>2</sub>	CA	48
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Anerobico	CBA	48
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Anerobico	CBA	48
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Anerobico	CBA	48
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 6919	Anerobico	CBA	48
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC 25845	Anerobico	CBA	48
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	5% CO <sub>2</sub>	CA	24

Abbreviazione : ATCC – American Type Culture Collection  
TSA - Tryptic Soy Agar; CBA: Columbia Base Agar; CA: Chocolate Agar



### Roll Plate

- Sospensione batterica 1.5x10<sup>8</sup>
- Diluizioni seriali 10<sup>-3</sup>
- Aliquote da 50 µl dispensate in triplicato
- Immersione dei tamponi e adsorbimento delle aliquote
- Conservazione in STT fino a 48h a 4°C a Temperatura Ambiente
- Rimozione del tampone e semina su agar



### Eluizione del Tampone

- Sospensione batterica 1.5x10<sup>8</sup>
- Diluizione 10<sup>-1</sup>
- Aliquote da 50 µl dispensate in triplicato
- Immersione dei tamponi e adsorbimento delle aliquote
- Conservazione in STT fino a 48h a 4°C a Temperatura Ambiente
- Miscelazione con vortex del STT, rimozione del tampone e diluizione seriale del terreno di trasporto fino a 10<sup>-3</sup>
- Inoculo di 50µl\* su agar e semina automatizzata a spirale

## Risultati

Tabella 2 Conformità del Sigma Transwab® al M40-A2 per vitalità e crescita utilizzando metodi qualitativo e quantitativo

Bacteria	Temp	Qualitativo (Roll Plate) CFU				Quantitativo (Eluizione del tampone) CFU/ml			
		0hr	24hr	48hr	Conformità M40-A2	0hr	24hr	48hr	Conformità M40-A2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® BAA-427	Temp ambiente	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	4°C	20	87	109	✓	3.27 x10 <sup>7</sup>	8.73 x10 <sup>7</sup>	3.3 x10 <sup>8</sup>	✓
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 10211	Temp ambiente	168	11	7	✓	3.27 x10 <sup>7</sup>	1.10 x10 <sup>6</sup>	2.17 x10 <sup>5</sup>	✓
	4°C		42	11	✓		1.16 x10 <sup>6</sup>	1.19 x10 <sup>5</sup>	✓
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 6305	Temp ambiente	225	131	74	✓	6.27 x10 <sup>6</sup>	6.40 x10 <sup>6</sup>	1.37 x10 <sup>6</sup>	✓
	4°C		216	202	✓		1.73 x10 <sup>6</sup>	7.60 x10 <sup>6</sup>	✓
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC® 19615	Temp ambiente	201	43	12	✓	8.30 x10 <sup>6</sup>	4.53 x10 <sup>6</sup>	2.67 x10 <sup>6</sup>	✓
	4°C		108	23	✓		6.70 x10 <sup>6</sup>	7.37 x10 <sup>6</sup>	✓
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC® 25845	Temp ambiente	73	95	38	✓	1.03 x10 <sup>7</sup>	5.20 x10 <sup>6</sup>	9.3 x10 <sup>6</sup>	✓
	4°C		92	80	✓		6.07 x10 <sup>6</sup>	6.5 x10 <sup>6</sup>	✓
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC® 25285	Temp ambiente	187	108	80	✓	9.83 x10 <sup>7</sup>	1.63 x10 <sup>7</sup>	7.10 x10 <sup>6</sup>	✓
	4°C		105	74	✓		4.57 x10 <sup>7</sup>	9.41 x10 <sup>6</sup>	✓
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC® 27337	Temp ambiente	301	176	105	✓	2.56 x10 <sup>8</sup>	7.01 x10 <sup>6</sup>	2.04 x10 <sup>6</sup>	✓
	4°C		165	135	✓		9.56 x10 <sup>7</sup>	2.30 x10 <sup>7</sup>	✓
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC® 6919	Temp ambiente	187	78	31	✓	7.04 x10 <sup>7</sup>	6.2 x10 <sup>6</sup>	4.31x10 <sup>6</sup>	✓
	4°C		69	52	✓		1.2 x10 <sup>7</sup>	6.96x10 <sup>6</sup>	✓
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC® 25586	Temp ambiente	297	215	108	✓	4.35 x10 <sup>8</sup>	4.71 x10 <sup>7</sup>	9.09 x10 <sup>6</sup>	✓
	4°C		246	178	✓		9.09 x10 <sup>7</sup>	5.41 x10 <sup>7</sup>	✓
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC® 43069	Temp ambiente	267	52	n/a	✓	8.13 x10 <sup>6</sup>	4.67 x10 <sup>5</sup>	n/a	✓
	4°C		65	n/a	✓		1.20 x10 <sup>6</sup>	n/a	✓

## Conclusioni

I criteri fissati dal nuovo standard M40-A2 per la conformità della vitalità prevedono che con metodica Roll Plate un campione mantenuto a 4°C e temperatura ambiente (TA) debba produrre ≥ 5 CFU dopo uno specifico periodo di conservazione mentre, con metodo di eluizione del tampone, i campioni mantenuti a 4°C e TA non dovrebbero produrre una diminuzione di oltre 3-log di CFU tra il tempo zero e il periodo di conservazione specificato. Per gli studi di crescita, i campioni mantenuti a 4°C non devono produrre un aumento più di 1-log in CFU tra il tempo zero e il periodo di conservazione specificato.

Il Sigma-Transwab® ha incontrato i criteri di accettabilità per tutti i batteri e nei tempi di conservazione previsti dal CLSI M40-A2 per entrambe i metodi qualitativo (Roll Plate) e quantitativo (eluizione del tampone) poiché è stato in grado di recuperare tutti i ceppi sia a temperatura ambiente che a 4°C nel pieno rispetto allo standard M40-A2.

Noi raccomandiamo che i sistemi di trasporto con terreni liquidi utilizzati in combinazione con tamponi in schiuma attualmente in commercio siano rivalutati internamente per garantire la piena conformità allo standard M40-A2 utilizzando metodi qualitativi e quantitativi. Ciò fornirà supporto per la diagnosi clinica migliorando ad esempio l'identificazione di batteri altamente sensibili come *N. gonorrhoeae*.

## Riferimenti

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Quality Control of Microbiological Transport Systems; Approved Standard- Second Edition*. CLSI document M40-A2

**Ringraziamenti:** I dispositivi di raccolta e trasporto campioni in questo studio sono stati forniti da MWE.

www.mwe.co.uk