

Finalidade:

Meio de cultura sólido nutritivo para uso geral em contagem ou isolamento de microrganismos.

Registro ANVISA:

10097010137

Apresentação:

510166 - TSA-AGAR-YE-5mL-TB 16,5X92-CX 10TB
530163 - TSA-AGAR-FR 100mL
540162 - TSA-AGAR-20mL-PL 90X15-10PL

LB 172073
Rev 11 – 07/2024

1. INTRODUÇÃO

Tryptic Soy Agar (TSA) é um meio de cultura que está em conformidade com as especificações da Farmacopéia dos Estados Unidos (USP) e Farmacopéia Brasileira. É um ágar utilizado para o isolamento e cultivo de microrganismos não fastidiosos e fastidiosos, para avaliar contaminações microbiológicas do ar e fluídos. As placas com embalagem tripla e irradiadas são utilizadas para monitorar o ar em salas limpas e outras áreas ambientalmente controladas quando a esterilidade do meio é de importância.

O TSA é usado para uma infinidade de técnicas incluindo a manutenção de culturas de estoque, contagem de placas, isolamento de microrganismos a partir de uma variedade de tipos de amostras. Este meio também é usado para testar contaminantes bacterianos em cosméticos. A apresentação em tubo suplementado com Extrato de Levedura (YE) é utilizada na técnica de *L. monocytogenes* e *E. coli* O157:H7.

Sua formulação contém a combinação de caseína e peptonas de soja onde deixa o meio altamente nutritivo, fornecendo nitrogênio orgânico, particularmente aminoácidos e peptídeos. O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico. O ágar é o agente solidificante.

2. COMPOSIÇÃO

Códigos: 530163 e 540162

Formulação	Concentração/ L
Digestão Pancreática de Caseína	15g
Enzima Digestiva de Soja	5g
Cloreto de Sódio	5g
Agar	15g
Água Deionizada	1000mL
pH 7,3± 0,2 a 25°C	

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

Código: 510166

Formulação	Concentração/ L
Digesto Enzimático de Caseína	17,0g
Digesto Papaico de Soja	3,0g
Extrato de Levedura	6,0g
Dextrose	2,5g
Cloreto de Sódio	5,0g
Fosfato de hidrogênio dibásico	2,5g
Ágar	15g
Água Deionizada	1000mL
pH 7,3 ± 0,2 a 25°C	

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

3. AMOSTRAS

a- Tipos de amostras

- Vários tipos de amostra podem ser inoculadas no TSA Ágar. O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.

- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, os produtos podem permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório os frascos (cód. 530163) devem ser armazenados em temperatura de 9 a 25°C, os tubos (cód. 510166) devem ser armazenados em temperatura de 2 a 12°C e as placas (cód. 540162) de 2 a 8°C, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza.

O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

Considerando que este produto é gelatinoso e sua composição pode apresentar até 80% de água, ao sofrer variações de temperatura (quente-frio ou frio-quente) todo meio de cultura pode gerar condensação, de pouco a muita, acumulando água na placa. Recomenda-se guardar as placas com os meios de cultura virados para cima e, quando necessário, desprezar a água acumulada e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura antes de sua utilização.

Conforme descrito em literatura, o laboratório deve retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto que deverá ser utilizada em sua rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada, antes de sua utilização, em temperatura ambiente, podendo utilizar a incubação em estufa (±37°C) para redução do tempo de secagem ou estabilização. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, a constante troca de temperatura pode levar a desidratação do meio, expor o produto a contaminações ou gerar um acúmulo de água excessivo.

A água acumulada por condensação, ocasionada por alguma variação de temperatura, não influencia no desempenho do produto, desde que este não apresente ressecamento ou diminuição de espessura.

Devido à presença de substratos sensíveis, recomenda-se manter o produto protegido de incidência direta de luz (natural ou artificial) e evitar grandes variações de temperatura até a utilização.

b- Precauções e cuidados especiais

- O produto destinado apenas para o uso *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais;
- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não inalar ou ingerir;

- Não utilizar placas e frascos com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;
- O procedimento de descarte do produto se baseia na RDC 222 (ANVISA) de 28 de março de 2018, que regulamenta as boas práticas de gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde.
- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos Detrilab.
- Contate o serviço de vigilância sanitária de sua região para garantir o cumprimento correto da legislação de descarte de produtos potencialmente contaminantes.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;
- Alças bacteriológicas;
- Bico de Bunsen.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

6.1 Placas

- a- Retirar o pacote de placas da geladeira e separar as placas a serem usadas, retornando o pacote à geladeira;
- b- Colocar as placas em estufa bacteriológica entre 35-37°C pelo tempo necessário para adquirirem esta temperatura;
- c- Realizar técnica de acordo com procedimento estabelecido pelo laboratório;
- d- Incubar as placas em estufa bacteriológica de acordo com a técnica estabelecida pelo laboratório;
- e- Após a incubação, realizar a avaliação do crescimento conforme técnica adequada.

6.2 Frasco

- a- Fundir o meio de cultura;
- b- Resfriar o meio de cultura fundido a 44-46°C;
- c- Inocular as amostras em placas de Petri estéreis, de acordo com a técnica estabelecida pelo laboratório;
- d- Verter nas placas inoculadas o meio de cultura previamente fundido e resfriado a 44-46°C, verter o volume indicado pelo método seguido pelo laboratório;
- e- Misturar o inóculo com o meio de cultura movimentando suavemente as placas, em superfície plana, em movimentos em forma de oito ou em movimentos circulares, nos sentidos horário e anti-horário;
- f- Permitir que o meio esfrie e solidifique;
- g- Incubar as placas em estufa bacteriológica de acordo com a técnica estabelecida pelo laboratório;
- h- Após a incubação, realizar a avaliação do crescimento conforme técnica adequada.

6.3 Tubos

- a- Identificar os tubos seguindo os critérios adotados pelo laboratório;
- b- Inocular o material de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório;
- c- Incubar por período de tempo exigido pela técnica adotada.

7. RESULTADOS

Realizar a contagem das colônias e calcular o resultado conforme o método de análise seguido pelo laboratório.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 36/2015)

Os resultados falsamente positivos ou negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Tempo longo entre a semeadura da amostra e análise. Ao utilizar colônias isoladas em um período superior a 24 horas, o metabolismo bacteriano pode ficar comprometido e a leitura de alguns parâmetros podem consequentemente ficar defasados ou até mesmo não ocorrer. Em colônias recentes (inferior ao período de 18 horas) não se encontram com o metabolismo bem definido, e algumas provas podem não ocorrer;

- Incubação em temperatura inadequada;
- Utilização de alça bacteriológica flambada não resfriada;
- Sobrecarga ou falta de inóculo; - Inóculos mais carregados fornecem resultados falsamente positivos e inóculos menos carregados fornecem resultados falsamente negativos;
- Interpretação equivocada de resultados;
- Técnica de assepsia inadequada;
- Tempo excessivo ou insuficiente de incubação;
- Tempo excessivo de incubação fornece resultados falsamente positivos e tempo insuficiente fornece resultados falsamente negativos;
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas;
- Contaminação cruzada por uso de acessórios não esterilizados corretamente ou ambiente não asséptico;
- Utilização de meios de cultura com aparência alterada;
- Não aguardar para que os materiais atinjam a temperatura ambiente no momento do uso;
- Erro na conservação do produto pode ocasionar desidratação do meio e alteração das propriedades dos componentes.

9. CONTROLE DE QUALIDADE

- *Materiais necessários*

Cepas padrão: ATCC® (*American Type Culture Collection*) ou derivadas).

- Controle de qualidade recomendado:

Cód. 510166

Parâmetro	Incubação	Resultado Esperado
Produtividade qualitativa - <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	33-37°C/24h	Crescimento bom
Meio sem inocular	Meio sólido ligeiramente opalescente, com coloração âmbar claro, homogêneo, livre de precipitados ou partículas visíveis.	

Cód. 530163

Parâmetro	Incubação	Resultado Esperado
Promoção crescimento - <i>S. aureus</i> ATCC 6538	30-35°C ou=3dias	Crescimento bom
Promoção crescimento - <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	30-35°C ou=3dias	Crescimento bom
Promoção crescimento - <i>B. subtilis</i> ATCC 6633	30-35°C ou=3dias	Crescimento bom
Promoção crescimento - <i>C. albicans</i> ATCC 10231	30-35°C ou=5dias	Crescimento bom
Promoção crescimento - <i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	30-35°C ou=5dias	Crescimento bom
Meio sem inocular	Meio sólido ligeiramente opalescente, com coloração âmbar claro, homogêneo, livre de precipitados ou partículas visíveis.	
pH	7,1 – 7,5	

Cód. 540162

Parâmetro	Incubação	Resultado Esperado
Promoção crescimento - <i>S. aureus</i> ATCC 6538	30-35°C ou=3dias	Crescimento ≥ 50 % em relação ao inóculo < 100 UFC obtido em lote referência de Agar TSA
Promoção crescimento - <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	30-35°C ou=3dias	Crescimento ≥ 50 % em relação ao inóculo < 100 UFC obtido em lote referência de Agar TSA
Promoção crescimento - <i>B. subtilis</i> ATCC 6633	30-35°C ou=3dias	Crescimento ≥ 50 % em relação ao inóculo < 100 UFC obtido em lote

		referência de Agar TSA
Promoção crescimento - <i>C. albicans</i> ATCC 10231	30-35°C ou=3dias	Crescimento ≥ 50 % em relação ao inóculo < 100 UFC obtido em lote referência de Agar TSA
Promoção crescimento - <i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	30-35°C ou=3dias	Crescimento ≥ 50 % em relação ao inóculo < 100 UFC obtido em lote referência de Agar TSA
Meio sem inocular	Meio sólido ligeiramente opalescente, com coloração âmbar claro, homogêneo, livre de precipitados ou partículas visíveis.	
pH	7,1 – 7,5	

- Periodicidade

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

- Análise dos resultados

O meio TSA Ágar testado com cepas padrão deve expressar os resultados esperados. Caso se constate algum problema, os resultados não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

10. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
- Os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-

0410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andrade, Nélcio José. Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos. São Paulo: Varela, 2008.
2. APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2015.
3. Difco Manual, edition 2009.
4. Farmacopéia Brasileira, 5ª edição. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2010.
5. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. 1st ed. The International Organization for Standardization, 2014.
6. ISO 11290-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: detection method, 1st. The International Organization for Standardization, 2017.
7. Guia ABC de Microbiologia – Controle Microbiológico na Indústria de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. 4^o. Ed. São Paulo 2014.
8. SILVA, de Neusely; *et al.* Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5ª ed. São Paulo: Blucher, 2017.



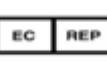
Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua: Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone: (41) 3661-9000
www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176
Serviço de Assessoria ao Cliente
SAC 0800-0410027
sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Européia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)