

**ISTRUZIONI PER L'USO****SABOURAUD BROTH**

Terreno di coltura in polvere



Sabouraud Broth – da sinistra provetta non inoculate e crescita di *Aspergillus brasiliensis*

1- DESTINAZIONE D'USO

Diagnostico *in vitro*. Terreno liquido per la coltivazione di lieviti e muffe.

2- COMPOSIZIONE***FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO SCIOGLIMENTO IN ACQUA**

Digerito peptico di tessuti animali	5 g
Digerito pancreatico di caseina	5 g
Glucosio	20 g

* Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Sabouraud Broth, noto anche come Sabouraud Dextrose Broth, è una modifica proposta da Sabouraud al terreno Sabouraud Dextrose Agar, senza agar e con il glucosio a concentrazione dimezzata.^{1,2}

Sabouraud Broth è un terreno liquido usato per la coltivazione di lieviti e muffe isolati da campioni clinici o non clinici.³

Il terreno è indicato per la preparazione del campione ed il suo pre-arricchimento nella procedura di ricerca di *Candida albicans* nei prodotti non sterili con metodo armonizzato EP.⁴ Sabouraud Broth è conforme alle specifiche qualitative riportate nella Farmacopea Europea.

Il digerito peptico di tessuti animali e il digerito pancreatico di caseina presenti nel terreno forniscono i componenti necessari per la crescita dei lieviti e delle muffe. Il pH acido è favorevole alla crescita dei funghi e dei batteri acidofili. Il glucosio, ad alta concentrazione, è una fonte di carbonio e di energia.

4 – PREPARAZIONE

Sospendere 30 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda. Agitare con cura e, se necessario, scaldare fino a completa solubilizzazione del terreno. Distribuire in provette o in flaconi e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Non eccedere nei tempi nelle temperature di riscaldamento.

5 – CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, gialla
Aspetto del terreno in soluzione ed in provetta	giallo, limpido.
pH (20-25°C)	5,6 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Sabouraud Broth	Terreno in polvere	4020002	500 g (16,7 L)
		4020004	5 kg (167 L)

7 – MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, provette, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.

8 – CAMPIONI

Sabouraud Broth è destinato principalmente alla coltivazione di lieviti e muffe isolati su campioni clinici e non clinici. In microbiologia farmaceutica, i campioni sono costituiti da prodotti non sterili su cui rilevare *C. albicans*. Per le procedure di raccolta e trasporto dei campioni, fare riferimento alla Farmacopea Europea.⁴

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Lasciare che le provette raggiungano la temperatura ambiente.

Metodo generale

Inoculare ciascun ceppo o campione in provetta, in duplicato. Incubare una provetta a 22-25°C e la seconda a 35°C per 2-7 giorni.

Le condizioni di incubazione possono variare a seconda del tipo di microrganismi attesi e possono essere prolungate fino a 30 giorni.

L'utilizzatore è responsabile della scelta del tempo di incubazione e della temperatura appropriati in base al campione trattato o al ceppo inoculato, ai requisiti degli organismi da recuperare o coltivare ed ai protocolli locali applicabili.

Determinazione di *Candida albicans* nei prodotti farmaceutici non sterili.⁴

Preparare la sospensione del campione in 100 mL di Sabouraud Broth utilizzando almeno 10 g o 10 mL di campione.

Incubare questa sospensione a 30°C - 35°C per 3-5 giorni.

Per mezzo di un'ansa trapiantare da Sabouraud Broth su piastra di Sabouraud Dextrose Agar (REF 402005) ed incubare 30°C-35°C per 24-48 ore.

La crescita di colonie bianche può indicare la presenza di *C. albicans*, da confermare con test d'identificazione appropriati.

La prova è da considerarsi negativa se sulla piastra non vi è presenza di colonie con le caratteristiche sopra descritte o se i test d'identificazione risultano negativi.





10 – LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, la presenza di crescita microbica è evidenziata dalla presenza di torbidità rispetto a un controllo non inoculato. Le caratteristiche delle crescite sono strettamente legate al tipo o ai tipi di microrganismi coltivati.

11 – CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	20-25°C / 72h / A	buona crescita, colonie tipiche
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	20-25°C / 72h / A	buona crescita, colonie tipiche
<i>T. rubrum</i> ATCC 28188	20-25°C / 72h / A	buona crescita, colonie tipiche

Per il controllo di qualità nel settore farmaceutico fare riferimento alla Farmacopea Europea edizione corrente
A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Sabouraud Broth disidratato viene sottoposto a test di produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività viene testata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di appropriate diluizioni decimali dei ceppi in provette, incubando a 20-25°C per un massimo di 72 ore e registrando la diluizione più alta che mostra crescita nel lotto di riferimento (Gr_{RB}) e nel lotto di prova (Gr_{TB}). La produttività viene testata con i seguenti ceppi target: *C. albicans* ATCC 18804, *A. brasiliensis* ATCC 16404, *P. chrysogenum* ATCC 10106, *T. rubrum* ATCC 28188, *M. canis* ATCC 36299, *L. casei* ATCC 393. La produttività è testata anche con *C. albicans* ATCC 10231 incubato a 30-35°C per 24 ore secondo EP. L'indice di produttività $Gr_{RB}-Gr_{TB}$ per ciascun ceppo in esame deve essere ≤ 1 .

13 – LIMITI DEL METODO

- Poiché Sabouraud Broth è un terreno di coltura generico con proprietà selettive molto scarse, su di esso possono coltivare anche ceppi batterici.
- Nel caso l'utilizzatore decidesse di aggiungere al terreno dei composti antimicrobici occorre tenere presente che il loro impiego può risultare inibitorio verso alcuni funghi. *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporum parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* sono sensibili alla combinazione di cicloeximide, penicillina e streptomomicina. La cicloeximide è inibitoria verso i funghi saprofiti. Il cloramfenicolo può essere inibitorio verso alcuni funghi patogeni. La penicillina inibisce *Nocardia* ed *Actinomyces*. La combinazione di cicloeximide e cloramfenicolo risulta inibitoria per la crescita di molti funghi patogeni.⁵
- Per la purificazione della coltura e per l'esecuzione dei test di identificazione sono necessarie subcolture su terreni solidi adeguati. Se necessario, eseguire test di suscettibilità antimicrobica.
- In microbiologia clinica, questo terreno di coltura è inteso come ausilio nella diagnosi di malattie infettive; l'interpretazione dei risultati deve essere fatta tenendo conto della storia clinica del paziente, dell'origine del campione e dei risultati di altri test diagnostici

14 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Questo prodotto è un diagnostico *in vitro* qualitativo, solo per uso professionale; deve essere utilizzato da personale di laboratorio adeguatamente addestrato e qualificato, osservando le precauzioni approvate per il rischio biologico e le tecniche asettiche.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni di sicurezza specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Comunicare a Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) e alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave che si verifichi in relazione all'uso del diagnostico *in vitro*.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

15 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).





L'utilizzatore è responsabile del processo di produzione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento). Secondo MacFaddin, il terreno di coltura in provetta preparato dall'utilizzatore può essere conservato a 2-8°C per 6 mesi.⁵

16 - BIBLIOGRAFIA

1. Espinel-Ingroff A. History of medical mycology in the United States. Clin Microbiol Rev 1966; 9:235-272
2. Sabouraud R. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralite des trichophytens de l'homme. Ann Dermatol Syphil 1892; 3:1061-1087.
3. Atlas R, Parks L. Media Handbook of Microbiological Media 2nd ed CRC Press, 1997
4. European Pharmacopoeia 11th Edition, 2022, Vol. 1; 2.6.13 Microbiological Examination of non-sterile products: test for specified micro-organisms: 01/2021:20631.
5. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	o REF	LOT Numero di lotto	Utilizzare entro	Fabbricante	IVD In vitro Diagnostic Medical Device
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> test	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Proteggere dalla luce	Proteggere dall'umidità	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del Layout	05/2022
Revisione 5	Aggiornamento dei capitoli 1, 3, 9, 13, 15, 16	03/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

