



TRYPTIC SOY BROTH WITH NaCl 10% AND SODIUM PYRUVATE

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Brodo selettivo per il conteggio di *Staphylococcus aureus* negli alimenti con metodo MPN.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA *

Tryptone	17,0 g
Peptone di soia	3,0 g
Sodio cloruro	95,0 g
Potassio fosfato bibasico	2,5 g
Glucosio	2,5 g
Sodio piruvato	10,0 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Staphylococcus aureus è stato identificato come l'agente eziologico in molti focolai di intossicazione alimentare. Gli alimenti trasformati possono contenere un numero relativamente piccolo di cellule vitali debilitate, la cui presenza deve essere dimostrata con metodi appropriati. Tryptic Soy Broth with NaCl 10% and sodium pyruvate si basa sulla capacità di *S. aureus* di crescere in presenza di NaCl al 10%.^{1,2} Questo terreno selettivo liquido è raccomandato da FDA BAM^{3,4} e AOAC⁵ per il conteggio di *S. aureus* mediante metodo MPN in prodotti in cui si prevede che un piccolo numero di cellule dell'organismo target subisca danni subletali o stress da riscaldamento, congelamento o essiccazione e negli alimenti che si prevede contengano un'ampia popolazione di specie concorrenti. La formulazione, con una concentrazione di 95 g/L di cloruro di sodio, soddisfa i requisiti FDA-BAM.⁴ I fattori di crescita essenziali sono forniti dal triptone e dal peptone di soia. Il piruvato di sodio aiuta la rivitalizzazione delle cellule stressate. Il glucosio è una fonte di carbonio ed energia. Il Potassio fosfato bibasico viene utilizzato come agente tampone per controllare il pH nel terreno. Il cloruro di sodio ad alta concentrazione è l'agente selettivo perché inibisce la crescita di molti batteri concorrenti senza avere un effetto sulla crescita stafilococcica.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 130 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Mescolare accuratamente e scaldare se necessario per sciogliere completamente la polvere. Distribuire 10 ml in provette e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto del terreno in provetta	giallo, limpido
pH finale (20-25 °C)	7,3 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Tryptic Soy Broth with NaCl 10% and Sodium Pyruvate	Terreno di coltura in polvere	40215512	500 g (3,8 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e tamponi sterili, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, provette, beute, terreni di coltura e reagenti accessori per l'identificazione delle colonie.

8 – CAMPIONI

Campioni alimentari. Durante la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, seguire le regole della buona pratica di laboratorio e fare riferimento agli standard internazionali applicabili.^{3,5}

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

- Inoculare 3 provette di Tryptic Soy Broth con NaCl 10% e piruvato di sodio con aliquote da 1 mL di diluizioni decimali di ciascun campione.
- Incubare le provette per 48 ± 2 ore a 35-37°C.
- Utilizzando un'ansa da 3 mm, trasferire 1 ansa da ciascuna provetta che mostra crescita (torbidità) alla piastra di terreno Baird-Parker Agar con superficie asciutta. Agitare su vortex le provette prima del prelievo se la crescita è visibile solo sul fondo o sui lati delle provette.
- Strisciare l'inoculo per ottenere colonie isolate. Incubare le piastre per 48 ore a 35-37°C.
- Da ciascuna piastra che mostra crescita, trasferire almeno 1 colonia sospettata di essere *S. aureus* in una provetta contenente 0,2 – 0,3 mL di BHI Broth ed emulsionare accuratamente.
- Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 ore, eseguire il test della coagulasi e i test di identificazione ausiliari (test della catalasi, utilizzazione anaerobica di glucosio e mannitolo, sensibilità alla lisostafina, produzione di nucleasi termostabile).³
- Refertare come *S. aureus*/g come MPN/g in base alle tabelle MPN appropriate.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La presenza di microrganismi è indicata da un diverso grado di torbidità, macchie e flocculazione nel mezzo liquido.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità per verificare la conformità alle specifiche. Tuttavia, l'utente finale può eseguire il proprio Controllo di Qualità in conformità alle normative locali applicabili, nel rispetto dei requisiti di accreditamento e dell'esperienza del Laboratorio. Di seguito sono elencati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	37°C/24 H/A	crescita
<i>E. coli</i> ATCC 25922	37°C/48 H/A	inibito

A: incubazione aerobica; ATCC è un marchio di American Type Culture Collection.



**12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI**

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Tryptic Soy Broth with NaCl 10% and Sodium Pyruvate viene testato per produttività e selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività viene testata mediante il metodo della diluizione ad estinzione, inoculando 1 mL di opportune diluizioni decimali degli organismi target nelle provette, incubando a 37°C per 24 ore e registrando la diluizione più alta che mostra la crescita nel lotto di riferimento (Gr_{RB}) e nel lotto di prova (Gr_{TB}). La produttività è testata con i seguenti ceppi target: *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 29213, *S. epidermidis* ATCC 12228. L'indice di produttività Gr_{RB}/Gr_{TB} per ciascun ceppo di prova è ≤ 1 .

La selettività è valutata mediante il metodo della diluizione ad estinzione con i seguenti ceppi non target: *E. faecalis* ATCC 19433 e *E. coli* ATCC 25922. Dopo incubazione a 37°C per 48 ore la crescita di *E. faecalis* è parzialmente inibita mentre *E. coli* è totalmente inibito.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura è destinato al controllo microbiologico ed è per uso professionale; deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni
- Il terreno disidratato deve essere maneggiato con adeguate protezioni. Prima dell'uso, consultare le schede 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 Buone Pratiche di Fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura preparati in laboratorio.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura, i supplementi ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire i terreni ed i supplementi non utilizzati ed i terreni inoculati con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzati, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e le Schede di Sicurezza sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego dei prodotti, 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.

14 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido sino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. 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 (es. modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi). L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo dei terreni in laboratorio e della validazione della loro shelf life, in funzione della tipologia e condizioni di conservazione applicate (temperatura e confezionamento). Secondo FDA-BAM⁴ il terreno preparato può essere conservato fino a 1 mese a $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

15 - REFERENCES

- APHA Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington D.C. 5th Ed, 2015.
- Lancette GA, Bennet RW. Evaluation of an improved MPN medium for recovery of stressed and nonstressed *Staphylococcus aureus*. J Ass Off Chem 1986; 69:44-46
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM), online. Chapter 12: *Staphylococcus aureus*. Content current as of: 12/16/2019
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM), online. M154a: Trypticase (Tryptic) Soy Broth with 10% NaCl and 1% Sodium Pyruvate. Content current as of: 10/24/2017
- AOAC International. Official Methods of Analysis, AOAC International Arlington, VA. 16th ed., 1995 sec. 987.09.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del Layout	05/2023

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

