

**ISTRUZIONI PER L'USO****TRYPTIC SOY BROTH**

Terreno di coltura in polvere



Tryptic Soy Broth
da sinistra: terreno non inoculato, crescita di *B. subtilis*

1 - DESTINAZIONE D'USO

Diagnostico *in vitro*. Terreno d'uso generale. Indicato per il test di sterilità e per l'esame microbiologico dei prodotti farmaceutici con metodi armonizzati EP, USP, JP. Terreno per la sospensione, l'arricchimento e la coltura di ceppi microbici isolati da campioni clinici su altri terreni di coltura.

2 - COMPOSIZIONE**FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIOGNIMENTO IN ACQUA)***

Digerito pancreatico di caseina	17,0 g
Peptone di soia	3,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Dipotassio idrogeno fosfato	2,5 g
Glucosio monoidrato	2,5 g

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Tryptic Soy Broth è un terreno d'uso generale che supporta la crescita di una larga varietà di microrganismi aerobi ed anaerobi facoltativi e di funghi.¹ Tryptic Soy Broth è indicato per il test di sterilità e per l'esame microbiologico dei prodotti farmaceutici con metodi armonizzati EP, USP, JP (casein soybean digest broth) ed è conforme alle specifiche qualitative ivi riportate.² In microbiologia clinica il Tryptic Soy Broth è impiegato per la sospensione, l'arricchimento e la coltura di ceppi microbici isolati su altri terreni di coltura e per la preparazione dell'inoculo per le procedure di controllo qualità.

Addizionato con il 20% di glicerolo, Tryptic Soy Broth può essere utilizzato per il mantenimento a lungo termine dei ceppi microbici; con lo 0,1-0,15% di agar, può essere utilizzato per migliorare la crescita degli anaerobi.¹ Tryptic Soy Broth è utilizzato in batteriologia alimentare come terreno di base al quale è possibile aggiungere una varietà di composti per l'arricchimento selettivo dei patogeni. Tryptic Soy Broth può essere utilizzato anche come terreno per emocolture.¹

Il digerito pancreatico di caseina ed il peptone di soia sono fonti di carbonio, azoto, vitamine e minerali per la crescita microbica; il glucosio costituisce una fonte di energia; il sodio cloruro mantiene l'equilibrio osmotico, il potassio fosfato bibasico è incluso come sistema tampone del pH del terreno.

4 - METODO DI PREPARAZIONE

Sospendere 30 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda. Scaldare per sciogliere completamente il terreno, distribuire ed autoclavare a 121°C per 15 minuti.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

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

6 - MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Tryptic Soy Broth	Terreno di coltura in polvere	4021552	500 g (16.7 L)
		4021554	5 kg (167 L)

7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

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

8 - CAMPIONI

Tryptic Soy Broth senza aggiunta di supplementi non deve essere utilizzato per l'inoculo diretto di campioni clinici.

In microbiologia clinica i campioni sono costituiti da colonie microbiche coltivate su altri terreni sui quali sono stati seminati i materiali in esame. In microbiologia farmaceutica i campioni sono costituiti dai prodotti farmaceutici sui quali eseguire il test di sterilità o la ricerca di specifici microrganismi. Riferirsi alla Farmacopea Europea per le procedure di raccolta e trasporto dei campioni.²

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Con un ago o un'ansa da batteriologia inoculare il terreno liquido in provetta o in flacone con una colonia coltivata su altro terreno d'isolamento. Incubare alla temperatura e per il tempo previsto dalle proprie procedure ed in funzione dei microrganismi che si desidera coltivare. Per le modalità di impiego e per lettura ed interpretazione dei risultati nel test di sterilità e per l'uso di Tryptic Soy Broth come terreno di pre-arricchimento per la rilevazione di microrganismi specifici nei prodotti farmaceutici, consultare la Farmacopea Europea.²





10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, la presenza di microrganismi è indicata da un grado variabile di torbidità, da granelli o flocculazione nel brodo di coltura. Il controllo non inoculato rimane chiaro e senza torbidità dopo l'incubazione. Le caratteristiche delle crescite sono strettamente correlate al tipo o ai tipi di microrganismi coltivati

11 - CONTROLLO QUALITÀ

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, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità³

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / t/ATM	SPECIFICHE
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita
<i>E.coli</i> ATCC 25922	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita

Per il controllo qualità nel settore farmaceutico, riferirsi alla Farmacopea Europea, edizione corrente
A: Aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di terreno in polvere Tryptic Soy Broth vengono testati per la produttività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

La produttività del terreno è valutata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di diluizioni appropriate di ceppi target nelle provette, incubando a 30-35°C o a 20-25°C per 18-24 o 24-72 ore e registrando la diluizione più alta ove si osserva crescita, nel Lotto di Riferimento (Cr_{LR}) e nel lotto in esame (Cr_{LE}). La produttività è valutata con i seguenti ceppi: *B.subtilis* ATCC 6633, *C.albicans* ATCC 10231, *A.brasiliensis* ATCC 16404, *S.aureus* ATCC 6538, *P.aeruginosa* ATCC 9027, *E.coli* ATCC 8739, *S.Typhimurium* ATCC 14028. L'indice di produttività (Cr_{LR}/Cr_{LE}) per ciascun ceppo è giudicato conforme quando è ≤ 1 .

13 - LIMITI DEL METODO

- Tryptic Soy Broth non è adatto per la coltura di microrganismi esigenti (ad es. *Haemophilus* o *Neisseria* spp.) o di anaerobi stretti
- Per eseguire test di identificazione è necessario il trapianto delle crescite su terreni in piastra adatti.
- Il terreno di coltura qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati dei test microscopici e/o di altri test diagnostici.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- 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 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 in piastra, provetta e flacone.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti 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) ed alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi 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 preparazione del terreno e della validazione del periodo di validità del prodotto finito, in funzione della tipologia (piastre/provette/flaconi) e del metodo di conservazione applicato (temperatura e confezionamento).

16 - BIBLIOGRAFIA

1. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
2. European Pharmacopoeia, current edition
3. CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004.





TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	o REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Utilizzare entro
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 5	Aggiornamento del contenuto e del layout	09/2020
Revisione 6	Modifiche a: "precauzioni ed avvertenze", "conservazione e validità"	01/2022
Revisione 7	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

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

