

**ISTRUZIONI PER L'USO****TRYPTIC SOY AGAR****Piastre pronte all'uso***Bacillus cereus* su Tryptic Soy Agar**1 - DESTINAZIONE D'USO**

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno d'uso generale per la coltivazione, l'isolamento ed il mantenimento di microrganismi esigenti e moderatamente esigenti. Per l'enumerazione microbica in prodotti farmaceutici non sterili e cosmetici.

**2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA \***

Digerito pancreatico di caseina	15 g
Peptone di soia	5 g
Sodio cloruro	5 g
Agar	15 g
Acqua purificata	1000 mL

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

**3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO**

Tryptic Soy Agar (TSA) è uno dei terreni di coltura più utilizzati in microbiologia clinica ed industriale. TSA ha una moltitudine di applicazioni nei laboratori clinici e non clinici tra cui l'isolamento, la coltivazione e la purificazione di colonie di microrganismi non esigenti e moderatamente esigenti ed il mantenimento dei ceppi in coltura.<sup>1</sup> Poiché non contiene i fattori X e V, esso è adatto per l'identificazione di *Haemophilus* spp., aggiungendo sulla superficie dell'agar dischi o strisce impregnate di Fattore X (emina) e Fattore V (NAD).<sup>2</sup> TSA è indicato come terreno di riferimento quando si debba misurare la produttività dei terreni selettivi.<sup>3</sup> TSA è il terreno indicato come "casein soya beam digest agar" dal metodo armonizzato EP, USP, JP<sup>4</sup> per la conta microbica totale nei prodotti farmaceutici non sterili. È raccomandato dalla norma ISO 21149 per l'enumerazione ed il rilevamento dei batteri mesofili aerobi nei cosmetici.<sup>5</sup> Tryptic Soy Agar è preparato con peptoni di caseina e di soia selezionati che rendono il terreno particolarmente nutriente grazie al loro contenuto in azoto organico, sotto forma di aminoacidi e polipeptidi. Il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico e l'agar è l'agente solidificante del terreno.

**4 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO**

Aspetto del terreno in piastra  
pH (20-25°C)

limpido di colore giallo chiaro  
7,3 ± 0,2

**5 - MATERIALI FORNITI**

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Tryptic Soy Agar CND: W0104010101; EDMA 14.01.01.01; RDM: 1455637/R	Piastre pronte all'uso	542150	2 x 10 piastre ø 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone

**6 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI**

Termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, anse, aghi, tamponi sterili da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.

**7 - CAMPIONI**

Il terreno non è adatto alla semina diretta di campioni clinici. Generalmente il terreno qui descritto è utilizzato per la sub-coltura di microrganismi coltivati su altri terreni di coltura. Campioni non di origine clinica analizzati con Tryptic Soy Agar possono essere prodotti farmaceutici non sterili e cosmetici. Consultare la letteratura citata per le procedure di raccolta e preparazione dei campioni.<sup>4,5</sup>

**8 - PROCEDURA DELL'ANALISI**

Portare le piastre a temperatura ambiente. Per la sub coltura delle colonie, inoculare, con un ago o un'ansa da batteriologia il terreno in piastra con una colonia coltivata su altro terreno d'isolamento. Incubare alla temperatura e per il tempo previsto dalle proprie procedure ed in funzione del microrganismo che si desidera coltivare.

L'utilizzatore è responsabile della scelta del tempo di incubazione, della temperatura e dell'atmosfera appropriata, a seconda del campione in esame, delle esigenze nutrizionali degli organismi da isolare e dei protocolli operativi locali applicabili.

Per l'esame di prodotti farmaceutici e cosmetici riferirsi ai metodi descritti dalla Farmacopea<sup>4</sup> e dalla norma ISO applicabile<sup>5</sup>.

**9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

La presenza di microrganismi è indicata dalla comparsa di colonie di varia morfologia e dimensione sulla superficie del terreno. Le caratteristiche delle crescite sono in stretto rapporto al tipo o ai tipi di microrganismi coltivati.

**10 - 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 responsabilità 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 del terreno privo di supplementi.

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

Per il controllo di qualità nel settore farmaceutico e cosmetico fare riferimento alla Farmacopea Europea edizione corrente ed alla norma ISO 21149.  
A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

### 11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di piastre di Tryptic Soy Agar e della materia prima impiegata per la produzione, terreno in polvere Tryptic Soy Agar, (test batch: TB), vengono testati per la produttività, confrontando i risultati con un Lotto di Riferimento precedentemente approvato (RB).

La produttività è testata con un test quantitativo con i seguenti ceppi: *P.aeruginosa* ATCC 9027, *E.coli* ATCC 8739, *B.cereus* ATCC 11778, *B.subtilis* ATCC 6633, *S.aureus* ATCC 6538, *S.aureus* ATCC 25923, *L.monocytogenes* ATCC 13932, *C.albicans* ATCC 10231, *A.brasiliensis* ATCC 16404. Le piastre TSA vengono inoculate con appropriate diluizioni decimali in soluzione salina delle sospensioni delle colonie e incubate a 30-35°C per 24-72 ore. Le colonie sviluppate sulle piastre sono contate per entrambi i lotti ed è calcolato il rapporto di produttività (Pr = UFC<sub>TB</sub>/UFC<sub>RB</sub>). Se Pr è ≥ 0,7 e se la morfologia delle colonie è tipica, i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche.

### 12 - LIMITI DEL METODO

- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- Il terreno di coltura qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

### 13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno in piastra 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.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali 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 d'uso 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](http://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.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzate, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito [www.biolifeitaliana.it](http://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 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.

### 14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, rotture dell'agar, colore alterato).

### 15 - BIBLIOGRAFIA

- Atlas R. Parks LC. Handbook of Microbiological Media. 2nd edition CRC Press, 1997
- Ledeboer NA, Doern GV. Haemophilus. In Jorgensen JH, Carroll KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.667.
- ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media
- European Pharmacopoeia, current edition
- ISO 21149:2017. Cosmetics — Microbiology — Enumeration and detection of aerobic mesophilic bacteria





## TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 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	 Non riutilizzare	 Fragile maneggiare con cura

## CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	09/2020

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

