Instructions For Use

ENGLISH

Tryptic Soy Broth

Casein Soya Bean Digest Broth

Medium for the isolation and cultivation of microorganisms.

INTENDED PURPOSE

Liquid medium for the isolation and cultivation of a wide variety of organisms from clinical specimens, environmental sources and other materials, according to USP/EP/JP. This medium is intended as an aid in the diagnosis, requiring further tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

Tryptic Soy Broth (TSB) is a nutritious medium used for the detection, isolation and cultivation of fastidious and nonfastidious microorganisms including bacteria and fungi from clinical specimens, environmental sources and other materials.

This medium meets the requirements of the harmonized method in the United States Pharmacopoeia (USP), European Pharmacopoeia (EP) and Japanese Pharmacopoeia (JP) for sterility testing and for microbiological examination of non-sterile products. It is recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) for inoculum preparation in antibiotic susceptibility testing.

TSB is also available as triple-wrapped and gamma-irradiated bottles, particularly suitable for use in restricted areas and for aseptic process simulations (media fill trial) in the pharmaceutical industry.

TYPICAL FORMULA*	(g/litre)
Pancreatic Digest of Casein	17.0
Papaic Digest of Soya Bean	3.0
Sodium Chloride	5.0
Dipotassium Hydrogen Phosphate	2.5
Glucose Monohydrate	2.5
Final pH 7.3 ± 0.2	

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

METHOD PRINCIPLE

Pancreatic digest of casein and papaic digest of soya bean provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Sodium chloride maintains osmotic balance in the medium. Dipotassium phosphate is a buffering agent. Glucose is an energy source.

PREPARATION

Dehydrated medium

Suspend 30.0 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes. Mix well and pour into sterile final containers.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: autoclave, sterile Petri plates, test tubes, inoculating loops, swabs, incubator, quality control organisms.

SPECIMENS

Clinical specimens should be sampled at the acute stage, before antimicrobial therapy (where possible) and examined as soon as possible after collection. Good laboratory practices for collection, transport and storage of the clinical specimens should be applied. Refer to specific guidelines for more information about specimen collection and preparation.

TEST PROCEDURE

For use in clinical microbiology, inoculate TSB directly with the clinical specimen or with a small amount of growth from an overnight culture on a solid medium. Usually, incubation at 35 ± 2°C for 18-24 hours is adequate.

For use in industrial microbiology, inoculate the sample or material to be tested into the medium. Incubate under appropriate atmosphere at 30-35°C for 18-72 hours (for the bacteria) and at 20-25°C for a maximum of 5 days (for the fungi).

For sterility testing, the way of inoculation depends on the type and size of test material.
If membrane filtration is carried out, a suitable diluent such as Fluid A (ref. 400010) may be used.
For direct inoculation, it is recommended a minimum 1:10 dilution of the sample to the culture medium.
Incubate at 20-25°C for 14 days.
For media fill test in biopharmaceutical manufacturing, two incubation temperatures are used. The initial incubation at 20-25°C for 7 days, and then at 30-35°C for further 7 days.

For all applications notice that:

- It is important to provide sufficient aeration during incubation by slightly loosening the caps;
- Fluid Thioglycollate Medium (ref. 24124) should be used for the cultivation of strict anaerobes.

INTERPRETING RESULTS

The presence of turbidity compared to an uninoculated control, or a pellicle formation indicate microbial growth. Subculture to suitable solid media for complete identification of the isolated colonies.
If the material being tested renders the medium turbid and a visual examination is not possible at the end of the incubation period, subculture to fresh TSB or onto appropriate solid media to ensure that turbidity is caused by the sample only and it is not a result of microorganisms multiplying in the broth.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and tubes at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Medium in bottles/tubes: 2 years.
Dehydrated medium: 4 years.

QUALITY CONTROL

Appearance of Dehydrated medium: Free-flowing, homogeneous, light beige.
Appearance of Prepared medium: Clear to very slightly opalescent, light amber to amber.
Expected Cultural Response:

<table>
<tr><th>Control strain</th><th>Inoculum</th><th>Incubation</th><th>Specification</th></tr>
<tr><td>Staphylococcus aureus ATCC® 6538</td><td rowspan="10">≤100 CFU</td><td rowspan="7">18-24 h /
32.5 ± 2.5°C</td><td rowspan="10">Good Growth</td></tr>
<tr><td>Staphylococcus aureus ATCC® 25923*</td></tr>
<tr><td>Escherichia coli ATCC® 8739</td></tr>
<tr><td>Escherichia coli ATCC® 25922*</td></tr>
<tr><td>Pseudomonas aeruginosa ATCC® 9027</td></tr>
<tr><td>Bacillus subtilis ATCC® 6633</td></tr>
<tr><td>Salmonella Typhimurium ATCC® 14028</td></tr>
<tr><td>Clostridium sporogenes ATCC® 11437</td><td>up to 72 h /
32.5 ± 2.5°C</td></tr>
<tr><td>Candida albicans ATCC® 10231</td><td rowspan="2">up to 5 days /
22.5 ± 2.5°C</td></tr>
<tr><td>Aspergillus brasiliensis ATCC® 16404</td></tr>
</table>

*CLSI recommended organisms

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of Tryptic Soy Broth was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

LIMITATIONS

Invalid results can be caused by poor specimen quality, improper sample collection, improper transportation, improper laboratory processing, or a limitation of the testing technology. The operator should understand the principles of the procedures, including its performance limitations, in advance of operation to avoid potential mistakes.
Due to nutritional variation, some strains may result in poor growth or fail to grow on this medium.

WARNING AND PRECAUTIONS

1) **For *in vitro* diagnostic use (IVD).**
2) **For laboratory professional use only.**
3) Operators must be trained and have certain experience. Please read the instructions carefully before using the product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.
4) Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.
5) Do not use if the product or packaging appears to be damaged.
6) Follow standard precautions. All patient specimens should be considered potentially infectious and handled accordingly.
7) Handle all specimens as if infectious using safe laboratory procedures. Dispose of hazardous or biologically contaminated materials according to the practices of your institution.
8) Avoid cross-contamination of samples by using disposable tips and changing them after each sample.
9) Do not mix reagents of different batches. Please use the product within the validity period.
10) Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics or handle contact lenses in areas where reagents and human specimens are handled.
11) Results should be interpreted by a trained professional in conjunction with the patient's history and clinical signs and symptoms, and epidemiological risk factors.
12) Ensure laboratory equipment is calibrated and maintained in accordance with the laboratory's procedure.
13) When test results are transmitted from the laboratory to an informatics centre, attention has to be done to avoid erroneous data transfer.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

See the references at the end of this document.

TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of this document.

ORDER INFORMATION

Product	Format	Packaging	Ref.
Tryptic Soy Broth	Tube	20 x 9 mL	24469
		20 x 10 mL	24513
		100 x 10 mL	26513
		50 x 5 mL	27500
	Bottle	25 x 100 mL bottles (flip-off cap)	453030
		6 x 225 mL bottles (screw cap)	432080
		6 x 200 mL bottles (screw cap)	442080
		6 x 100 mL bottles (screw cap)	452080
		25 x 90 mL bottles (screw cap)	452100
		25 x 100 mL bottles (screw cap)	455208
		6 x 500 mL bottles (screw cap)	470370
		6 x 100 mL bottles (screw cap) triple wrapped and gamma-irradiated	452080S
		6 x 100 mL bottles (flip-off cap)	400030
	Dehydrated media	500 g	610053
		100 g	620053
		5 kg	6100535

There may be additional product ref. numbers as well. For an updated listing of available products, visit **liofilchem.com**

Revision History

Revision	Release Date	Change Summary
0	2026-06-15	Updated layout and content in compliance with IVDR 2017/746, version reset to revision 0

In case of malfunctions or defects, contact immediately Liofilchem (*) or the local representative.

In case of incident associated with the device, notify immediately Liofilchem (*) or its local representative and the National Competent Authority.

*Please login to https://www.liofilchemstore.it/login.php (user ID and password required) and click on Complaint.

This IFU document and the SDS are available from the online Support Center:

liofilchem.com/ifu-sds

Tryptic Soy Broth
Casein Soya Bean Digest Broth

Terreno per l'isolamento e la coltivazione dei microrganismi.

USO PREVISTO

Terreno liquidio per l'isolamento e la coltivazione di un'ampia varietà di microrganismi da campioni clinici, ambientali e altri materiali, in accordo a USP/EP/JP. Il terreno è inteso come ausilio alla diagnosi, e sono necessari ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

DESCRIZIONE

Tryptic Soy Broth (TSB) è un terreno nutritivo utilizzato per la ricerca, l'isolamento e la coltivazione di microrganismi esigenti e non esigenti incluso batteri e funghi da campioni clinici, fonti ambientali ed altri materiali.

Questo terreno soddisfa i requisiti del metodo armonizzato nelle Farmacopee Statunitense (USP), Europea (EP) e Giapponese (JP) per i test di sterilità e l'esame microbiologico dei prodotti non sterili. È raccomandato dal Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) per la preparazione dell'inoculo nei test di sensibilità agli antibiotici.

TSB è anche disponibile in bottiglie confezionate con triplo involucro e sterilizzate ai raggi gamma, particolarmente adatte per l'impiego nelle aree microbiologicamente controllate e per la simulazione dei processi asettici (media fill) nelle industrie farmaceutiche.

FORMULA TIPICA*	(g/litro)
Digerito Pancreatico di Caseina	17.0
Digerito Papaico di Farina di Soia	3.0
Sodio Cloruro	5.0
Dipotassio Idrogeno Fosfato	2.5
Glucosio Monoidrato	2.5
pH finale 7.3 ± 0.2 a 25°C	

*Adattata e/o integrate per soddisfare le specifiche prestazionali.

PRINCIPIO DEL METODO

Digerito pancreatico di caseina e digerito papaico di farina di soia forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. Il dipotassio fosfato è l'agente tamponante. Il glucosio è una fonte di energia.

PREPARAZIONE

Terreno disidratato

Sospendere 30.0 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata. Mescolare bene. Scaldare fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Mescolare bene e versare in contenitori finali sterili.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e attrezzature microbiologiche standard quali: autoclave, piastre Petri sterili, provette, anse di inoculazione, tamponi, incubatore, organismi di controllo qualità.

CAMPIONI CLINICI

I campioni clinici devono essere prelevati nella fase acuta, prima della terapia antimicrobica (ove possibile) ed esaminati il prima possibile dopo la raccolta. È necessario applicare le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici. Per ulteriori informazioni sulla raccolta e la preparazione dei campioni, fare riferimento alle linee guida specifiche.

PROCEDURA DEL TEST

Per l'uso in microbiologia clinica, inoculare il TSB direttamente con il campione o con una piccola quantità della crescita da una coltura fresca su terreno solido. Di norma il terreno viene incubato a 35 ± 2°C per 18-24 ore.

Per l'uso in microbiologia industriale, inoculare il campione o il materiale da testare nel terreno. Incubare in atmosfera appropriata a 30-35°C per 18-72 ore (per i batteri) ed a 20-25°C per un massimo di 5 giorni (per i funghi).
Per i test di sterilità, il metodo di inoculo dipende dalla tipologia e dalle dimensioni del materiale da esaminare.
Se viene eseguita la filtrazione su membrana, può essere utilizzato un diluente adatto, come ad esempio Fluid A (ref. 400010).
Per l'inoculo diretto, si raccomanda di ottenere come minimo una diluizione 1:10 del campione nel terreno di coltura.
Incubare a 20-25°C per 14 giorni.
Per i Media Fill test nei processi produttivi farmaceutici, sono utilizzate due temperature di incubazione.
L'incubazione iniziale a 20-25°C per 7 giorni, e di seguito a 30-35°C per ulteriori 7 giorni.

Qualunque sia l'applicazione bisogna notare che:

- è importante fornire una sufficiente aerazione durante l'incubazione svitando leggermente i tappi;
- si dovrebbe utilizzare Fluid Thioglycollate Medium (ref. 24124) per la coltivazione degli anaerobi obbligati.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La presenza di torbidità o la formazione di una pellicola, rispetto ad un controllo non inoculato, sono indice di crescita microbica. Sub-coltivare su terreni solidi adatti per l'identificazione completa delle colonie isolate.
Se il materiale investigato rende di per se il terreno torbido ed alla fine del periodo di incubazione non è possibile l'esame visivo, sub-coltivare in TSB fresco o su terreni solidi appropriati per assicurarsi che la torbidità sia causata solo dal campione e non sia il risultato della moltiplicazione microbica.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi e le provette a 10-25°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno in flaconi/provette: 2 anni
Terreno disidratato: 4 anni

CONTROLLO QUALITÀ

Aspetto del terreno disidratato: Omogeneo, fine granulometria, beige chiaro.
Aspetto del terreno preparato: Da ambra chiaro ad ambra, da limpido a leggermente opalescente.
Risultati Attesi dei Test Colturali:

Ceppi di controllo	Inoculo	Incubazione	Specifiche
Staphylococcus aureus ATCC® 6538	≤100 UFC	18-24 h / 32.5 ± 2.5°C	Buona crescita
Staphylococcus aureus ATCC® 25923*			
Escherichia coli ATCC® 8739			
Escherichia coli ATCC® 25922*			
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 9027			
Bacillus subtilis ATCC® 6633			
Salmonella Typhimurium ATCC® 14028			
Clostridium sporogenes ATCC® 11437		up to 72 h / 32.5 ± 2.5°C	
Candida albicans ATCC® 10231		up to 5 days / 22.5 ± 2.5°C	
Aspergillus brasiliensis ATCC® 16404			

*Microrganismi raccomandati da CLSI

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Il test delle prestazioni del Tryptic Soy Broth è stato effettuato utilizzando i ceppi di controllo qualità sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

LIMITAZIONI

Risultati non validi possono essere causati da scarsa qualità del campione, raccolta impropria del campione, trasporto improprio, procedure di laboratorio non idonee o limitazioni della tecnologia di analisi. L'operatore deve comprendere i principi delle procedure, inclusi i limiti delle prestazioni, prima dell'uso per evitare potenziali errori.
A causa della variabilità nutrizionale, alcuni ceppi potrebbero presentare una crescita scarsa o non crescere su questo terreno.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1) **Per uso diagnostico *in vitro* (IVD).**
2) **Solo per uso professionale di laboratorio.**
3) Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare il prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni contenute in questo documento.
4) Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle pratiche di manipolazione sicure.
5) Non utilizzare se il prodotto o la confezione sembrano danneggiati.
6) Seguire le precauzioni standard. Tutti i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infetti e maneggiati di conseguenza.
7) Maneggiare tutti i campioni come infetti utilizzando procedure di laboratorio sicure. Smaltire materiali pericolosi o biologicamente contaminati secondo le pratiche del proprio istituto.
8) Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando puntali monouso e sostituendole dopo ogni campione.
9) Non mescolare reagenti di lotti diversi. Si prega di utilizzare il prodotto entro il periodo di validità.
10) Non mangiare, bere, fumare, applicare cosmetici o maneggiare lenti a contatto nelle aree in cui vengono manipolati reagenti e campioni umani.
11) I risultati devono essere interpretati da un professionista qualificato insieme alla storia del paziente, ai segni e sintomi clinici e ai fattori di rischio epidemiologici.
12) Assicurarsi che le apparecchiature di laboratorio siano calibrate e mantenute in conformità con la procedura del laboratorio.
13) Quando i risultati dei test vengono trasmessi dal laboratorio a un centro informatico, è necessario prestare attenzione per evitare trasferimenti di dati errati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

Vedere i riferimenti alla fine di questo documento.

TABELLA DEI SIMBOLI

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.

Il prodotto è disponibile in diverse configurazioni. Vedere l'elenco nella lingua inglese.

In caso di malfunzionamenti o difetti, contattare immediatamente Liofilchem (*) o il rappresentante locale.

In caso di incidente associato al dispositivo, avvisare immediatamente Liofilchem (*) o il suo rappresentante locale e l'Autorità Nazionale Competente.

*Si prega di effettuare il login su https://www.liofilchemstore.it/login.php (user ID e password richiesti) e cliccare su "Complaint".

Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online:

liofilchem.com/ifu-sds

References / Riferimenti

1. CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. 12th ed. CLSI standard M07. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2024.
2. United States Pharmacopeial Convention (2014) The United States Pharmacopeia 38/National Formulation 33, Supp. 2. Chapter Microbiological examination of non-sterile products: Microbial enumeration tests and Chapter Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified products. Chapter Sterility Tests. Rockville, Md., USA.
3. European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (2014) The European Pharmacopoeia. 8th Ed. Chapter 2.6.12 Microbiological examination of non-sterile products: Microbial enumeration tests and Chapter 2.6.13 Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified products. Strasbourg, France.
4. PDA Technical Report No. 13 (2014 Revised) Fundamentals of an Environmental Monitoring Program.
5. Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare (2011) The Japanese Pharmacopoeia. 16th Ed. Chapter 4.05 Microbial Limit Test I. Microbiological examination of non-sterile products: Total viable aerobic count and II. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified products. Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare. Tokyo, Japan.
6. Pharmaceutical Inspection Convention Co-operation Scheme (PIC/S). Recommendation on the Validation of Aseptic Processes (2011) Revision 6.
7. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*. 14th ed. CLSI standard M02. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2024.
8. FDA (2004) Guidance for Industry: Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice.

Table of Symbols / Tabella dei Simboli

LOT	Batch code / Codice lotto
REF	Catalogue number / Numero di catalogo
IVD	*In Vitro* Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico *in vitro*
	Manufacturer / Fabbricante
	Use by / Utilizzare entro
	Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura
	Temperature limitation / Limiti di temperatura
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi
	Consult instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso
	Do not reuse / Non riutilizzare
	Keep away from sunlight / Tenere al riparo dalla luce solare

Liofilchem® s.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com

CE IVD