

PEPTONE YEAST EXTRACT AGAR

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Per l'isolamento selettivo di lieviti, muffe e dermatofiti.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA *

Peptone di soia	10,00 g
Estratto di lievito	5,00 g
Glucosio	40,00 g
Streptomicina solfato	0,03 g
Cloramfenicolo	0,05 g
Agar	15,0 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

I terreni contenenti antibiotici mostrano migliori performances rispetto ai terreni acidificati e sono ampiamente utilizzati per l'isolamento di lieviti e muffe da campioni clinici e non clinici.

Il Peptone Yeast Extract Agar è una modifica della formula classica del Sabouraud Dextrose Agar, ideata da Carmichael e Kraus principalmente per recuperare selettivamente *Trichophyton verrucosum*, una delle specie associate alla tigna.^{1,2}

Il Peptone Yeast Extract Agar è utile per l'isolamento di lieviti e muffe e per la diagnosi precoce dei dermatofiti.

Il peptone di soia e l'estratto di lievito forniscono i nutrienti per la crescita microbica. Il glucosio è una fonte di carbonio ed energia per favorire la crescita dei dermatofiti. Il cloramfenicolo e la streptomicina inibiscono la crescita batterica e favoriscono l'isolamento dei dermatofiti e di altri funghi.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 70 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Riscaldare fino a ebollizione con agitazione frequente e sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50 °C, mescolare bene e versare in piastre Petri sterili. Evitare il surriscaldamento.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, giallo
Aspetto della soluzione	giallo chiaro, limpido
pH finale (20-25 °C)	6,6 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Peptone Yeast Extract Agar	Terreno disidratato	4018952	500 g (7.1 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio come richiesto, beute, piastre di Petri, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Campioni cutanei non clinici e clinici come unghie, capelli, pelle. Per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni, fare riferimento ai riferimenti e alle procedure standard appropriati.³⁻⁵

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Lasciare che le piastre raggiungano la temperatura ambiente.

Procedura generale

1. Strisciare il campione sul terreno di coltura in modo da ottenere colonie isolate.
2. Incubare in aerobiosi a 25°C o 35°C, se necessario, per un massimo di 4 settimane.
3. Esaminare dopo 48 ore e successivamente a intervalli.

Rilevamento dei dermatofiti

1. Premere i campioni cutanei esercitando una leggera pressione sulla superficie dell'agar.
2. Incubare in aerobiosi a 25-30°C o a 30-37°C se si sospetta la presenza di *T. verrucosum*.
3. Esaminare al microscopio dopo 48 e 72 ore per osservare la crescita di microcolonie.
4. Se si osservano microcolonie, queste devono essere trasferite su nuove piastre prima che si sviluppi una crescita eccessiva.
5. Reincubare le piastre per un massimo di 14 giorni e osservare la crescita a intermittenza.

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

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione osservare la crescita batterica e registrare le caratteristiche morfologiche e cromatiche specifiche della superficie anteriore e posteriore delle colonie. I dermatofiti si sviluppano sotto forma di colonie sfumate di vari colori a seconda della specie e possono richiedere un lungo periodo di incubazione.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore finale 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
T. mentagrophytes ATCC 9533

INCUBAZIONE T° / T / ATM
25°C / fino a 72 h / A

RISULTATI ATTESI
crescita





C. albicans ATCC 10231
E. coli ATCC 25922

25°C / fino a 72 h / A
25°C / fino a 72 h / A

crescita
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 Peptone Yeast Extract Agar disidratato viene valutato per la produttività e la selettività, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività viene testata mediante tecnica ecometrica semiquantitativa con i seguenti ceppi target: *T. mentagrophytes* ATCC 9533, *M. canis* ATCC 36299, *C. albicans* ATCC 18804, *T. rubrum* ATCC 28188, *P. chrysogenum* ATCC 10106. Dopo l'incubazione a 25°C per 72 ore, vengono valutate la quantità di crescita e le caratteristiche delle colonie: i ceppi target mostrano una buona crescita con colonie tipiche.

La selettività viene valutata con il metodo semiquantitativo modificato Miles-Misra, inoculando la superficie delle piastre con gocce di opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione 0,5 McFarland di *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 25923. La crescita dei ceppi non target è totalmente inibita.

13 – LIMITI DEL METODO

- È necessario prestare attenzione nel maneggiare le piastre di coltura, poiché le muffe possono formare spore che vengono facilmente rilasciate.
- Quando si cercano i dermatofiti in campioni provenienti da alcuni siti corporei, la sovracrescita di *Candida* può essere un problema.
- Per una completa identificazione degli isolati possono essere necessari ulteriori test fisiologici o biochimici.

14 - 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
- Poiché Peptone Yeast Extract Agar è un terreno dagli usi molteplici, l'applicazione specifica scelta dall'utente finale deve essere convalidata, soprattutto se utilizzato per l'esame di campioni clinici.
- I terreni disidratati devono essere maneggiati 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.
- 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.

15 – 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).

16 - Bibliografia

- Carmichael JW, Kraus HJ. *Alberta Med Bull* 1959; 24:201.
- Carmichael JW. *Mycopathologia* 1961; 14:129.
- Public Health England. Investigation of dermatological specimens for superficial mycoses. SMI B 39, Issue no: 3.1, 2016.
- McGowan K. Specimen Collection, Transport and Processing: Mycology. In Jorgensen JH, Pfaller et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; Vol.2, 2015.
- APHA Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington D.C. 5th Ed, 2015.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	03/2023

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

