

TRYPTIC SOY YEAST EXTRACT AGAR (TSYEA)

Terreno di coltura in polvere e pronto all'uso

1- DESTINAZIONE D'USO

Terreno generico per la coltivazione di un'ampia varietà di microrganismi, in particolare *Listeria* spp.

2 - COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO SCIOGLIMENTO IN ACQUA*

Digerito enzimatico di caseina	17,0 g
Digerito enzimatico di farina di soia	3,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Dipotassio idrogeno fosfato	2,5 g
Glucosio	2,5 g
Estratto di lievito	6,0 g
Agar	12,0 g

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

3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Tryptic Soy Yeast Extract Agar (TSYEA) si basa sulla formulazione di Tryptic Soy Broth a cui vengono aggiunti estratto di lievito e agar. È un terreno generico per la coltivazione di un'ampia varietà di microrganismi ed è raccomandato dalla norma ISO 11290^{1,2} per la purificazione delle colonie coltivate su terreni di isolamento selettivi.

La caseina, i peptoni di soia e l'estratto di lievito forniscono l'azoto, il carbonio, gli aminoacidi, le vitamine e i minerali necessari per la crescita microbica. Il glucosio è una fonte di carbonio ed energia. Il fosfato dipotassico è usato come agente tampone per controllare il pH del terreno, mentre il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico.

4-PREPARAZIONE

Sospendere 48 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.

5-CARATTERISTICHE DEL TERRENO

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

6-MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Tryptic Soy Yeast Extract Agar (TSYEA)	Terreno disidratato	4021662	500 g (10,4 L)
Tryptic Soy Yeast Extract Agar (TSYEA)	Piastre pronte all'uso	542166	2 x 10 plates ø 90 mm.

7-MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

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

8-CAMPIONI

Colonie coltivate su terreni di coltura selettiva

9-PROCEDURA DELL'ANALISI E INTERPRETAZIONE

Strisciare le colonie selezionate sulla superficie di piastre asciutte di TSYEA, per consentire alle colonie isolate di svilupparsi.

Incubare a 37 °C per 18-24 ore o finché la crescita non è soddisfacente.

Le colonie ottenute saranno poi utilizzate per i test di identificazione biochimica.

10-CONTROLLO QUALITÀ'

Le colonie tipiche di *Listeria* spp. su Tryptic Soy Yeast Extract Agar hanno un diametro compreso tra 1 e 2 mm, sono convesse, incolori e opache con un bordo intero. Quando le piastre vengono esposte alla luce (artificiale o naturale) con un angolo di circa 45 gradi, le colonie presentano un colore grigio-blu e una superficie granulare.

11-CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Tutti i lotti di prodotto vengono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità che ne verifica 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>L. monocytogenes</i> NCTC 7973	37°C/ 24 H/A	buona crescita
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	37°C/ 24 H/A	buona crescita

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

12-LIMITI DEL METODO

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di TSYEA disidratato e di piastre pronte (lotto di prova: TB) viene sottoposto a test di produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento (RB).

La produttività viene testata con metodo quantitativo con i ceppi target *L. monocytogenes* NCTC 7973 e *L. monocytogenes* ATCC 13932.

Le piastre vengono inoculate mediante tecnica di diffusione superficiale con diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione





di colonie e incubate a 37 °C per 24 ore in aerobiosi. Le colonie vengono contate su entrambi i lotti e viene calcolato il rapporto di produttività (Pr: UFC_{TB}/UFC_{RB}). Se Pr è $\geq 0,7$ e se la morfologia e il colore delle colonie sono tipici, i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche.

13-PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è destinato ai controlli microbiologici, è 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.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- 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.
- Ogni piastra pronta per l'uso di questo terreno di coltura è esclusivamente monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerarsi un "prodotto sterile" in quanto non soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti delle specifiche definite riportate sul Certificato di Controllo Qualità.
- 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 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.
- 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

Terreno disidratato

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).

Piastre pronte all'uso

Dopo il ricevimento, conservare le piastre nella loro confezione originale a +2 / +8°C al riparo dalla luce diretta. Se correttamente conservate, le piastre possono essere utilizzate fino alla data di scadenza. Non utilizzare le piastre oltre questa data. Le piastre estratte dal sacchetto di plastica possono essere utilizzate per 7 giorni se conservate in un'area pulita a +2 / +8°C. Non utilizzare le piastre se la busta di plastica è danneggiata. Non utilizzare le piastre con segni di deterioramento (ad es. contaminazione microbica, disidratazione, restringimento o screpolatura del terreno, colore atipico, eccesso di umidità).

L'utilizzatore è responsabile del processo di produzione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia (provette/flaconi) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).

15- BIBLIOGRAFIA

- ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. - Part 1: Detection method.
- ISO 11290-2:2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. - Part 2: Enumeration method.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	Utilizzare entro	Fabbricante	Monouso
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 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	04/2023

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

