

**VITAMIN FREE YEAST BASE
YEAST CARBON BASE
YEAST MORPHOLOGY AGAR
YEAST NITROGEN BASE**

Terreni in polvere per la classificazione dei lieviti

FORMULE TIPICHE (per litro)

Componenti	Vitamin Free Yeast Base	Yeast Carbon Base	Yeast Morphology Agar	Yeast Nitrogen Base
FONTI DI AZOTO				
Ammonio solfato	5.00 g	–	3.50 g	5.00 g
Asparagina	–	–	1.50	–
FONTE DL CARBONIO				
Glucosio	10.00 g	10.00 g	10.00 g	–
AMINOACIDI				
L-Istidina	10.00 mg	1.00 mg	10.00 mg	10.00 mg
DL-Metionina	20.00	2.00	20.00	20.00
DL-Triptofano	20.00	2.00	20.00	20.00
VITAMINE				
Niacina	–	0.40 mg	0.40 mg	0.40 mg
Acido p-aminobenzoico	–	0.20	0.20	0.20
Piridossina idrocloruro	–	0.40	0.40	0.40
Riboflavina	–	0.20	0.20	0.20
Tiamina idrocloruro	–	0.40	0.40	0.40
Calcio pantotenato	–	0.40	0.40	0.40
Inositolo	–	2.00	2.00	2.00
Biotina	–	20.00 µg	20.00 µg	20.00 µg
Acido folico	–	2.00	2.00	2.00
ELEMENTI IN TRACCE				
Acido borico	0.50 mg	0.50 mg	0.50 mg	0.50 mg
Potassio ioduro	0.10	0.10	0.10	0.10
Ferro cloruro	0.20	0.20	0.20	0.20
Manganese solfato 0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
Sodio molibdato	0.20	0.20	0.20	0.20
Zinco solfato	0.40	0.40	0.40	0.40
Rame solfato	40.00 µg	40.00 µg	40.00 µg	40.00 µg
SALI				
Monopotassio fosfato	0.85 g	0.85 g	0.85 g	0.85 g
Dipotassio fosfato	0.15	0.15	0.15	0.15
Magnesio solfato	0.50	0.50	0.50	0.50
Calcio cloruro	0.10	0.10	0.10	0.10
Sodio cloruro	0.10	0.10	0.10	0.10
AGENTE SOLIDIFICANTE				
Agar	–	–	16.00 g	–

I terreni sono preparati secondo le formule proposte da Wickerham e modificate da Van der Walt.

METODI DI PREPARAZIONE ED IMPIEGO**VITAMIN FREE YEAST BASE**

Sospendere sotto agitazione 16.7 g di polvere in 100 ml di acqua distillata fredda e sterilizzare per filtrazione. Il terreno così preparato è concentrato 10 volte, per l'uso diluirlo 1:10 (0.5 + 4.5 ml) con una soluzione sterile di vitamine.

pH finale 5.6 +/- 0.2.

Vitamin Free Yeast Base è un terreno contenente tutti i fattori di crescita per i lieviti ad eccezione delle vitamine, utilizzato per la classificazione dei lieviti sulla base della loro richiesta nutrizionale di fattori vitaminici. Usare un inoculum molto diluito e incubare i tubi per 7 giorni a 25-28°C. Poiché con l'inoculum si possono trasportare vitamine e poiché i lieviti medesimi sono capaci di recare con sé tracce di vitamine si deve eseguire un secondo trapianto in Vitamin Free Yeast Base preparato come per il primo inoculo e incubare per 7 giorni a 25-28°C.

YEAST CARBON BASE

Sospendere sotto agitazione 11.7 g di polvere in 100 ml di acqua distillata fredda e sterilizzare per filtrazione. Il terreno così preparato è concentrato 10 volte, per l'uso diluirlo 1:10 con una soluzione sterile del composto azotato prescelto. Il composto a base d'azoto più utilizzato è il potassio nitrato.

Sciogliere 0.078 g di potassio nitrato in 90 ml di acqua distillata bollita di recente e sterilizzare per filtrazione. A 0.5 ml di Yeast Carbon Base, in provetta da 16 mm, aggiungere, con le cautele dell'asepsi, 4,5 ml della soluzione di potassio nitrato.

pH finale 5.8 +/- 0.2.

Yeast Carbon Base è un terreno contenente tutti i fattori di crescita per i lieviti ad eccezione delle fonti d'azoto, utilizzato per la classificazione dei lieviti in base alla loro capacità di assimilare l'azoto.

Usare un inoculum molto diluito e incubare i tubi per 7 giorni a 25-28°C. Poiché con l'inoculum si possono trasportare composti azotati e poiché i lieviti medesimi recano con sé una riserva d'azoto sotto forma di proteine, si deve eseguire un secondo trapianto in Yeast Carbon Base preparato come per il primo inoculo ed incubare per 7 giorni a 25-28°C.

YEAST MORPHOLOGY AGAR

Sciogliere 33 g di polvere in 1000 ml di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione, distribuire e autoclavare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a circa 50°C e versare in piastre Petri sterili. Far asciugare il terreno in piastra per 1-2 giorni prima di inoculare.

pH finale 5.8 +/- 0.1.

Yeast Morphology Agar è un terreno contenente tutti i fattori di crescita per i lieviti, utilizzato per il test di sensibilità sui lieviti per lo studio delle loro caratteristiche culturali, della morfologia cellulare, della formazione dei miceli e degli pseudomiceli, secondo i metodi consigliati da Wickerham e da Van der Walt. La tecnica raccomandata per la semina è quella di Dolman: un inoculum leggero, preso da una coltura pura attivamente crescente va seminato in una singola riga ad una estremità della piastra e in due punti distinti all'estremità opposta; deporre sulla sezione centrale dello striscio e su uno dei due inoculi puntiformi due vetrini coprioggetto sterili.

Dopo 3-4 giorni di incubazione prelevare la crescita dell'inoculo puntiforme e dello striscio, senza vetrino, ed osservare al microscopio la morfologia delle cellule vegetative.

Dopo 3-4 giorni osservare con un microscopio (obiettivo a secco 3 mm oculare x 10) le zone sottostanti ai vetrini per la formazione di micelio o pseudomicelio e per la morfologia delle colonie.

YEAST NITROGEN BASE

Sciogliere sotto agitazione 6.7 g di polvere in 100 ml di acqua distillata fredda e sterilizzare per filtrazione. Il terreno così preparato è concentrato 10 volte, per l'uso diluirlo 1:10 con una soluzione sterile dei carboidrati prescelti. Sciogliere 0.5 g del carboidrato desiderato in 90 ml di acqua distillata, sterilizzare per filtrazione e aggiungere, con le cautele dell'asepsi, 4.5 ml di tale soluzione a 0.5 ml di Yeast Nitrogen Base.

pH finale 5.6 +/- 0.2.

Yeast Nitrogen Base è un terreno contenente tutti i fattori di crescita per i lieviti, ad eccezione della fonte di carbonio, indicato per la classificazione dei lieviti in base alla utilizzazione ossidativa dei composti carboniosi. Usare un inoculum molto diluito e insembrare le provette contenenti i carboidrati e una provetta di controllo con il terreno diluito 1:10 in acqua distillata sterile.

Incubare per 20-24 giorni a 25-28°C, mantenendo i tubi inclinati per esporre una maggior superficie all'ossigenazione. Osservare la crescita dei lieviti ponendo le provette contro un cartoncino bianco su cui siano state tracciate delle righe nere di 3-4 mm di spessore. Se le linee sono scarsamente visibili attraverso la coltura, la prova è positiva. La crescita dei lieviti è spesso gialla per la presenza di riboflavina.

CONSERVAZIONE

Vitamin Free Yeast Base, Yeast Carbon Base, Yeast Morphology Agar: conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto.

Yeast Nitrogen Base: conservare a 2-8°C al riparo della luce, in luogo asciutto.

In queste condizioni i prodotti sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperto, conservare i prodotti mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.)

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Vitamin Free Yeast Base, Yeast Nitrogen Base: contengono *ammonio solfato* e sono classificati come Xi (irritanti) ai sensi della legislazione vigente. Consultare le schede di sicurezza prima dell'impiego.

Vitamin Free Yeast Base, Yeast Carbon Base: i preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$. Come per tutti i terreni in polvere anche la loro manipolazione deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

I prodotti qui descritti sono solo per uso diagnostico *in vitro* e devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare i materiali inoculati dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

•Van der Walt, J.P. (1971) - Criteria and methods used in classification. In: «The Yeasts» ed. Lodder, J. ch.2, pp.84-113. Amsterdam: North Holland.

•Wickerham, L.J. (1951) - The Taxonomy of Yeast. Tech. Bull. U.S. Dept. Agric., n° 1029.

CONFEZIONI

4021901	Vitamin Free Yeast Base,	100 g (5.9 l)
4021902	Vitamin Free Yeast Base,	500 g (25.9 l)
4022151	Yeast Carbon Base,	100 g (8.5 l)
4022152	Yeast Carbon Base,	500 g (42.7 l)
4022501	Yeast Morphology Agar,	100 g (3 l)
4022502	Yeast Morphology Agar,	500 g (15 l)
4022551	Yeast Nitrogen Base,	100 g (14.9 l)
4022552	Yeast Nitrogen Base,	500 g (74.5 l)

