

YEAST NITROGEN BASE

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Per la classificazione dei lieviti in base all'utilizzo ossidativo dei composti contenenti carbonio.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA *

Fonte di azoto

Ammonio solfato 5.00 g

Aminoacidi

L-Istidina 10.00 mg

DL-Metionina 20.00 mg

DL-Triptofano 20.00 mg

Vitamine

Niacina 0.40 mg

p-aminobenzoico 0.20 mg

Piridossina 0.40 mg

Riboflavina 0.20 mg

Tiamina 0.40 mg

Calcio pantotenato 0.40 mg

Inositolo 2.00 mg

Biotina 20.00 µg

Acido folico 2.00 mg

Elementi in tracce

Acido bórico 0.50 mg

Potassio ioduro 0.10 mg

Ferro cloruro 0.20 mg

Manganese solfato 0.40 mg

Sodio molibdato 0.20 mg

Zinco solfato 0.40 mg

Rame solfato 40.00 µg

Sali

Monopotassio fosfato 0.85 g

Dipotassio fosfato 0.15 g

Magnesio solfato 0.50 g

Calcio cloruro 0.10 g

Sodio cloruro 0.10 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

I lieviti sono microrganismi unicellulari eucarioti classificati come membri del regno dei funghi con grande importanza industriale e implicazioni patogene. L'identificazione primaria dei lieviti si ottiene mediante un assortimento di metodi morfologici, biochimici e fisiologici. La tecnica di assimilazione dei carboidrati rimane una delle più comuni e ampiamente utilizzate per l'identificazione definitiva dei lieviti.

Yeast Nitrogen Base è preparato secondo la formulazione ideata da Wickerham¹⁻³ e modificata da Van der Walt⁴. Contiene tutti i fattori di crescita per i lieviti, ad eccezione della fonte di carbonio. È adatto per la classificazione dei lieviti sulla base dell'utilizzo ossidativo dei composti contenenti carbonio. I risultati sono evidenti dalla crescita nel terreno liquido utilizzato per l'assimilazione. Yeast Nitrogen Base addizionato con 13,0 g/L di agar, preparato secondo la formulazione di Wickerham e Burton³, può essere utilizzato in una tecnica auxanografica per determinare i modelli di assimilazione dei carboidrati.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sciogliere 6,7 g in 100 mL di acqua purificata fredda e sterilizzare per filtrazione. La soluzione così ottenuta ha una concentrazione 10X; per l'uso diluire 1:10 con una soluzione sterile del carboidrato prescelto: sciogliere 0,5 g del carboidrato in 90 mL di acqua purificata, sterilizzare per filtrazione e aggiungere asetticamente 4,5 mL di questa soluzione a 0,5 mL di Yeast Nitrogen Base.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere Fine granulometria omogenea, bianca
Aspetto della soluzione incolore, limpida
pH finale (20-25 °C) 5,6 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Yeast Nitrogen Base	Terreno di coltura in polvere	4022552	500 g (74,5 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Incubatrice e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, anse e tamponi sterili, provette, beute, carboidrati, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Culture pure di lieviti.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

- Inoculare molto leggermente il terreno in provetta con il microrganismo da testare.
- Incubare a 25°C per 6-7 giorni o, se necessario, per 20-24 giorni. Dopo l'incubazione agitare le provette e leggere la crescita.



**10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

Dopo l'incubazione, la crescita batterica è evidenziata dalla presenza di torbidità rispetto a un controllo non inoculato. Osservare la crescita dei lieviti appoggiando le provette su un cartoncino bianco su cui sono state tracciate delle linee nere (spessore: 3-4 mm). Se le linee sono poco visibili attraverso la coltura il test è positivo. La crescita del lievito è spesso gialla a causa della presenza di riboflavina.

Fare riferimento alla letteratura per gli schemi di identificazione del lievito basati sui risultati del test di assimilazione dei carboidrati.⁵

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono messi in vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità per verificare 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.²

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>C. albicans</i> ATCC 18804	25°C /72h /A	buona crescita

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

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Yeast Nitrogen Base disidratato addizionato con adeguate soluzioni di carboidrati viene testata per la produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività viene testata inoculando il terreno in provetta addizionato con mannosio, ramnosio, saccarosio e lattosio con un'appropriata diluizione decimale degli organismi di prova, incubando a 25°C per 72 ore e registrando le provette che mostrano la crescita nel lotto di riferimento (G_{RB}) e nel lotto di prova (G_{TB}). La produttività è testata con i seguenti ceppi target: *C. tropicalis* NCPF 8841, *C. intermedia* CBS 572, *C. albicans* ATCC 18804, *S. cerevisiae* ATCC 9763. I ceppi testati presentano risultati di assimilazione dei carboidrati conformi alle specifiche e confrontabili nel lotto di prova e nel lotto di riferimento.

13 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Questo prodotto è solo per il controllo microbiologico e per uso professionale; deve essere utilizzato da personale di laboratorio adeguatamente addestrato e qualificato, osservando le precauzioni approvate per il rischio biologico e le tecniche asettiche.
- I terreni disidratati devono essere maneggiati con una protezione adeguata. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- Applicare le buone pratiche di fabbricazione nel processo di produzione dei supporti preparati.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infetti.
- L'area del laboratorio deve essere controllata per evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima dello smaltimento. Smaltire il terreno non utilizzato e il terreno sterilizzato inoculato con campioni o ceppi microbici in conformità con la legislazione locale vigente.
- Non utilizzare il terreno di coltura come ingrediente attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale di produzione destinato al consumo umano e animale
- I Certificati di Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni fornite in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida per il corretto utilizzo del prodotto ma senza obblighi o responsabilità. In tutti i casi devono essere osservate le leggi locali, i regolamenti e le procedure standard esistenti per l'esame di campioni prelevati da distretti biologici umani e animali, per campioni ambientali e per prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non sollevano i nostri clienti dalla responsabilità di verificare l'idoneità del nostro prodotto per lo scopo previsto.

14 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare a +2°C /+8°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).

15 - REFERENCES

1. Wickerham L.J. A simple technique for the detection of melibiose-fermenting yeasts. *J Bacteriol* 1943; 46:501-505.
2. Wickerham L.J. A critical evaluation of the nitrogen assimilation tests commonly used in the classification of yeasts. *J Bacteriol* 1946; 52:293-301.
3. Wickerham L.J, Burton K.A. Carbon assimilation tests for the classification of yeasts. *J Bacteriol* 1948; 56:363-371.
4. Van der Walt J.P. Criteria and methods used in classification. In: «The Yeasts» ed. Lodder, J. ch.2, pp.84-113. Amsterdam: North Holland. 1971.
5. Borman AM, Johnson EM. *Candida*, *Cryptococcus* and other yeasts of medical importance. In Carroll KC, Pfaller MA et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 12th ed. Vol 2, 2019. Washington, DC: American Society for Microbiology.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del Layout	05/2023

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

