



YERSINIA PSB BROTH

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno di arricchimento liquido per la rilevazione di *Yersinia enterocolitica* in alimenti, acqua, campioni ambientali.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Peptone	5,00 g
Sorbitolo	10,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Sodio fosfato bibasico	8,23 g
Sodio fosfato monobasico	1,20 g
Sali biliari n° 3	1,50 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Il genere *Yersinia* comprende coccobacilli Gram-negativi, di cui tre specie, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* e alcuni ceppi di *Yersinia enterocolitica* sono di importanza patogena per l'uomo. *Y. enterocolitica* è ubiquitaria, essendo frequentemente isolata dal suolo, dall'acqua, dagli animali e da una varietà di alimenti.¹ La forma più comune di malattia dovuta a *Y. enterocolitica* è la gastroenterite associata al consumo di cibo o acqua contaminati.² Il rilevamento di *Y. enterocolitica* può comportare fino a quattro fasi successive: primo arricchimento, secondo arricchimento, semina, identificazione.

Peptone Sorbitol Bile (PSB) Broth è un terreno liquido di arricchimento selettivo incluso nelle procedure ISO 10273³, FDA-BAM¹ e APHA⁴ per il rilevamento di *Y. enterocolitica* in alimenti, acqua e campioni ambientali.

Il metodo di rilevazione del patogeno *Y. enterocolitica* raccomandato dalla norma ISO 10273³ prevede l'omogeneizzazione del campione in brodo PSB seguita da: 1) inoculazione diretta su piastre di CIN agar 2) incubazione di brodo PSB 3) seconda fase di arricchimento in brodo ITC 4) trattamento alcalino, 5) semina dei brodi di arricchimento trattati su CIN Agar. Il metodo di rilevamento raccomandato da FDA-BAM¹ e APHA⁴ prevede l'arricchimento in brodo PSB seguito dalla semina su terreni selettivi (piastre MacConkey Agar e CIN Agar).

Yersinia PSB Broth contiene un peptone che fornisce azoto, aminoacidi e oligoelementi per la crescita microbica. Il sorbitolo è un carboidrato fermentabile, fonte di carbonio ed energia. I sali biliari n° 3 limitano la crescita dei batteri Gram-positivi. Il cloruro di sodio contribuisce a mantenere l'equilibrio osmotico del terreno. I fosfati sono usati come agenti tampone per controllare il pH nel terreno.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 31 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Mescolare accuratamente e riscaldare leggermente se necessario per sciogliere completamente la polvere. Dispensare in provette o palloni di capacità adeguata per ottenere porzioni appropriate per i campioni di prova. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto della soluzione	giallo chiaro, limpida
pH finale (20-25 °C)	7,6 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Yersinia PSB Broth	Terreno di coltura in polvere	4022702	500 g (16 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, beute, provette, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Cibo, acqua, campioni ambientali. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, seguire le buone pratiche di laboratorio e fare riferimento agli standard e ai regolamenti internazionali applicabili.^{1,3,4}

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Rilevazione di *Y. enterocolitica* secondo ISO 10273³

- Sospensione iniziale: omogeneizzare 25 g di campione in 225 mL di Yersinia PSB Broth.
- Trasferire 10 mL di sospensione PSB in 90 mL di brodo ITC* e mescolare.
- Utilizzando la sospensione PSB iniziale, dividere un volume totale di 1 mL su due o quattro piastre di agar CIN[^] e distribuirlo sulle piastre.
- Capovolgere le piastre CIN e incubare a 30 °C per 24 h ± 2 h.
- Incubare la sospensione iniziale nel brodo PSB e nei flaconi del brodo ITC a 25 °C per 44 h ± 4 h.
- Eseguire il trattamento alcalino trasferendo 0,5 mL dei brodi PSB e ITC incubati in 4,5 mL di KOH 0,5% in soluzione fisiologica e mescolare.
- Dopo 20 ± 5 secondi dall'aggiunta degli arricchimenti PSB/ITC alla soluzione KOH, inoculare con un'ansa la superficie di una piastra di agar CIN e la superficie di una piastra di agar cromogenico[§] per ottenere colonie ben separate .
- Incubare le piastre di agar CIN a 30 °C per 24 h ± 2 h. Incubare le piastre cromogeniche secondo le istruzioni per l'uso.
- Eseguire i test di conferma e di biotipizzazione secondo le modalità descritte dalla norma ISO.

Note:

* Yersinia ITC Broth Base (REF 402265) + Potassium Chlorate Supplement (REF 4240065) + Ticarcillin Irganon Antimicrobial Supplement (REF 4240060).

[^] CIN Agar Base (REF 401302) + Yersinia Selective Supplement (REF 4240011)

[§] Chromogenic Yersinia Agar Base (REF 408050) + Chromogenic Yersinia Supplement (REF 4240095).

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La crescita batterica nel brodo Yersinia PSB è evidenziata dallo sviluppo di torbidità.

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, 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>Y. enterocolitica</i> ATCC 23715 + <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	25°C/ 44h/ A	> 10 colonie tipiche dopo subcoltura su CIN Agar

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 *Yersinia* PSB Broth disidratato viene testato per produttività e selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività e la selettività sono testate insieme alle seguenti miscele di opportune diluizioni di coloranti target (≤ 100 UFC/provetta) e ceppi non target (≥ 1000 UFC/provetta): *Y. enterocolitica* ATCC 23715 + *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *Y. enterocolitica* ATCC 9610 + *P. aeruginosa* ATCC 27853. Dopo l'incubazione delle provette inoculate a 25°C per 44 ore e la subcoltura su CIN Agar, i ceppi target mostreranno una crescita predominante sul terreno in piastra (> 10 colonie tipiche).

Inoltre, la produttività viene valutata mediante il metodo della diluizione ad estinzione, inoculando 1 mL di opportune diluizioni decimali degli organismi target nelle provette, incubando a 25°C per 44 ore e registrando la diluizione più alta che mostra la crescita nel lotto di riferimento (G_{RB}) e nel lotto da approvare (G_{TB}). La produttività è testata con i seguenti ceppi bersaglio: *Y. enterocolitica* ATCC 23715 e *Y. enterocolitica* ATCC 9610. L'indice di produttività $G_{RB}-G_{TB}$ per ciascun ceppo di prova deve essere ≤ 1 .

La selettività è testata mediante il metodo della diluizione ad estinzione con il ceppo non target *E. faecalis* ATCC 29212. Dopo l'incubazione la crescita di *E. faecalis* è parzialmente inibita.

13 – LIMITI DEL METODO

- Il recupero e l'identificazione della *Yersinia* patogena possono essere influenzati dal tipo di campioni, dall'arricchimento e dal terreno di semina, dal livello e dal tipo di microflora di fondo, dal livello della *Yersinia* patogena e non patogena, dal sierotipo della *Yersinia* patogena presente negli alimenti e dalla perdita dei geni di virulenza durante l'incubazione.⁴
- Nelle indagini sui focolai di origine alimentare, potrebbe essere necessaria la procedura di arricchimento a freddo.³

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
- Il terreno disidratato deve essere maneggiato 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 - REFERENCES

- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 8: *Yersinia enterocolitica*. Rev 10/2017
- Petersen MJ, Gladney LM, Schriefer ME. *Yersinia*. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015.
- ISO 10273:2017 Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*.
- American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5th ed. 2015. APHA, Washington, DC.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 5	Aggiornamento del contenuto e del Layout	05/2023

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

