



## YEAST EXTRACT AGAR

### Terreno di coltura in polvere e pronto all'uso

#### 1 – DESTINAZIONE D'USO

Un terreno altamente nutritivo per la conta su piastra di organismi in campioni di acqua.

#### 2 – COMPOSIZIONE

##### FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA \*

TERRENO DISIDRATATO E PRONTO ALL'USO	
Triptone	6,0 g
Estratto di lievito	3,0 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

Yeast Extract Agar è preparato secondo la formula descritta da Windle Taylor<sup>1</sup> per la conta su piastra dei microrganismi nelle acque. Yeast Extract Agar è raccomandato dalla norma ISO 6222<sup>2</sup> per il conteggio di batteri aerobi, lieviti e muffe in acqua con il metodo della semina per inclusione.

Il triptone fornisce azoto, carbonio, minerali e aminoacidi per la crescita microbica. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, in particolare del gruppo B. L'agar è l'agente solidificante.

#### 4A - INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 24 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Riscaldare fino all'ebollizione con agitazione frequente per dissolvere completamente la polvere e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50°C, mescolare bene e distribuire in piastre Petri sterili.

#### 4B - INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DI FLACONI E PROVETTE PRONTE ALL'USO

Ridisciogliere il contenuto del flacone/provetta in autoclave a 100 ± 2°C o in bagnomaria a temperatura controllata (100°C). In alternativa, il flacone o la provetta possono essere inseriti in un recipiente contenente acqua, che viene posto su una piastra calda e portato a ebollizione. Allentare leggermente il tappo prima del riscaldamento per consentire lo scambio di pressione. Raffreddare a 47-50°C e versare il terreno di coltura in piastre Petri sterili.

#### 5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto della soluzione e del terreno pronto	soluzione limpida di colore giallo chiaro
pH finale (20-25 °C)	7,2 ± 0,2

#### 6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Yeast Extract Agar	Terreno disidratato	4022752	500 g (20,8 L)
Yeast Extract Agar	Piastre pronte all'uso	492275	3 x 10 piastre ø 55 mm
Yeast Extract Agar	Provette pronte all'uso	552275	20 x 15 mL
Yeast Extract Agar	Flaconi pronti all'uso	5122752	6 x 100 mL
		5122753	6 x 200 mL

#### 7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

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

#### 8 – CAMPIONI

Campioni d'acqua. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, seguire le buone pratiche di laboratorio e fare riferimento agli standard e alle normative internazionali applicabili.

#### 9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

- Utilizzando una pipetta sterile, dispensare un volume non superiore a 2 mL di campione in esame e/o delle sue diluizioni, in una piastra Petri vuota e mescolare con 15-20 mL di Yeast Extract Agar fuso pre-raffreddato a 44-46°C.
- Capovolgere le piastre e incubare una serie di piastre in condizioni aerobiche a 36 ± 2 °C per 44 ± 4 ore; incubare la seconda serie di piastre a 22 ± 2 °C per 68 ± 4 ore.

#### 10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Per ogni temperatura di incubazione, contare tutte le colonie ottenute nelle piastre contenenti meno di 300 colonie e calcolare il numero di microrganismi per millilitro del campione in esame.

#### 11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono rilasciati in 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  
*B.subtilis* ATCC 6633

INCUBAZIONE T°/ T - ATM  
34-38°C/44 H-A

RISULTATI ATTESI  
buona crescita



*A. brasiliensis* ATCC16404

20-24°C/72 H-A

buona crescita

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

## 12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Yeast Extract Agar disidratato e pronto all'uso (Lotto di prova TB) viene testato per la produttività, la specificità e la selettività, confrontando i risultati con un Lotto di riferimento (RB) precedentemente approvato.

La produttività è testata con metodo quantitativo con i seguenti ceppi batterici *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633 e i seguenti ceppi micologici *C. albicans* ATCC 10231, *A. brasiliensis* ATCC 16404. Le piastre vengono inoculate con la tecnica per inclusione con diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione di colonie e incubate a 37°C per 44 ore (ceppi batterici) e a 22°C per 72 ore (ceppi micologici). Le colonie vengono contate su entrambi i terreni e viene calcolato il rapporto di produttività (Pr:  $UFC_{TB}/UFC_{RB}$ ). Se Pr è  $\geq 0,7$  i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche.

## 13 – LIMITI DEL METODO

- Un ritardo di oltre 10 minuti tra la dispensazione del campione nelle piastre Petri e l'aggiunta di agar può determinare conteggi inferiori.<sup>3,4</sup>
- Una potenziale fonte di errore nel conteggio delle piastre può derivare dall'impilamento delle piastre di Petri: in una pila di 3 piastre, la piastra centrale e quella superiore impiegano più tempo per raffreddarsi, determinando così conteggi inferiori.<sup>3,5</sup>
- Aumentando il tempo di permanenza delle diluizioni nel diluente si ottengono conteggi più elevati.<sup>3,5</sup>
- La conta aerobica in piastra non distingue le diverse specie batteriche. La variazione del tempo di incubazione, della temperatura e del tipo di atmosfera favorirà la crescita di organismi diversi che quindi cresceranno e saranno contati.<sup>3</sup>

## 14 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è per 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.
- 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](http://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 norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Prestare attenzione all'apertura dei flaconi o delle provette con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Quando si utilizza una piastra riscaldante e/o un bagnomaria, far bollire a sufficienza per sciogliere tutto il terreno di coltura.
- Indossare guanti di protezione dal calore durante la liquefazione del terreno in flacone. Non mettere le beute calde in un bagno di ghiaccio o in acqua fredda per accelerare il raffreddamento, poiché ciò potrebbe causare crepe nel vetro.
- Il tempo necessario per la completa liquefazione del terreno in flacone può variare notevolmente e dipende dalla temperatura effettiva del dispositivo di riscaldamento, dalla sua potenza, dalle dimensioni e dal volume della bottiglia.
- Una volta liquefatto, il terreno in flacone non può essere solidificato e disciolto una seconda volta.
- Le provette e i flaconi pronti all'uso sono soggetti a sterilizzazione terminale in autoclave.
- Ogni piastra di questo terreno di coltura è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerarsi un "prodotto sterile" in quanto non sono soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto con biocontaminazione controllata, entro i limiti delle specifiche riportate sul Certificato di Controllo di Qualità.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura ed i ceppi microbici
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire i terreni 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](http://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

### Terreno di coltura in polvere

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).

### Piastre pronte all'uso

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Le piastre estratte dal sacchetto di plastica possono essere utilizzate entro 7 giorni se conservate in un ambiente pulito a 2-8°C. Eliminare se vi sono segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, disidratazione, restringimenti o screpolature del terreno, colore atipico, eccesso di condensa).

### Flaconi e provette pronti all'uso





Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni provette e flaconi sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Provette e flaconi estratti dal confezionamento secondario possono essere utilizzati sino alla data di scadenza. Provette e flaconi aperti devono essere usati immediatamente. Prima dell'uso, controllare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Eliminare provette e flaconi con segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, torbidità anormale, colore atipico).

### 16 - BIBLIOGRAFIA

1. Windle Taylor E. (1958) 'The Examination of Waters and Water Supplies', 7th ed., Churchill Ltd., London, pp. 394-398 and 778.
2. ISO 6222: 1999 Water quality - Enumeration of culturable microorganisms-Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium
3. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5th ed. 2015. APHA, Washington, DC.
4. Berry JM, McNeill DA, Witter LD. Effect of delay in pour plating on bacterial counts. J Dairy Sci 1969; 52:1456-1457
5. Koburger JA. Stack pouring of Petri plates: a potential source of error. J Food Prot. 1980; 43:561-562.
6. Huhtanen CN Brazis AR, Arledge WL et al. Effects of time of holding dilutions on counts of bacteria from raw milk. J Milk Food Technol. 1972; 35:126-130

### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Proteggere dall'umidità	 Fragile, maneggiare con cura
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Lato superiore	 Proteggere dalla luce	 Monouso

### CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del Layout	03/2023

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

