

COLUMBIA AGAR EP

Terreno di coltura in polvere

1- DESTINAZIONE D'USO

Terreno di uso generale per la rilevazione di clostridi in prodotti farmaceutici non sterili.

2 - COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA*

Idrolisato pancreatico di caseina	10 g
Idrolisato peptico di tessuto animale	5 g
Idrolisato pancreatico di cuore	3 g
Estratto di lievito	5 g
Amido di mais	1 g
Sodio cloruro	5 g
Agar	14 g

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

3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Columbia Blood Agar è stato descritto per la prima volta nel 1966 da Ellner, Stoessel, Drakeford e Vasi¹ della Columbia University, che hanno combinato carne e peptoni di caseina e sangue di pecora defibrinato in un unico terreno. Dopo 2 anni di prova, questo terreno ha mostrato proprietà di promozione della crescita notevolmente migliorate ed è risultato essere superiore all'agar sangue precedentemente utilizzato per differenziare gli organismi emolitici β e α .¹

Columbia Agar EP è conforme alla formulazione data dai metodi microbiologici armonizzati della Farmacopea Europea.² Il terreno è consigliato per la procedura di rilevazione dei clostridi, per la subcoltura dal Reinforced Medium.

I peptoni forniscono carbonio, azoto e oligoelementi per la crescita batterica, l'estratto di lievito è una fonte di vitamine, in particolare del gruppo B. Il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico, l'amido di mais è incluso per assorbire i sottoprodotti tossici contenuti nel campione ed è una fonte di energia per la crescita batterica.

4-PREPARAZIONE

Sospendere 43 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda e portare a ebollizione mescolando frequentemente. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Lasciare raffreddare a 47-50°C ed aggiungere, ove necessario, gentamicina solfato in quantità corrispondente a 20 mg di gentamicina base e versare nelle piastre Petri.

5-CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, giallo chiaro
Aspetto del terreno in soluzione	paglierino, leggermente opalescente.
pH (20-25°C)	7,3 \pm 0,2

6-MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Columbia Agar EP	Terreno di coltura in polvere	4011342	500 g (11,6 L)

7-MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e tamponi sterili, incubatore e attrezzatura di laboratorio secondo necessità, generatori di atmosfera controllata e giare, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8-CAMPIONI

Prodotti farmaceutici non sterili. Fare riferimento agli standard e alle normative internazionali applicabili per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni e operare in conformità alle buone pratiche di laboratorio.

9-PROCEDURA DELL'ANALISI

- Preparare un campione utilizzando una diluizione 1 a 10 (con un volume totale minimo di 20 mL) non meno di 2 g o 2 mL del prodotto da esaminare.
- Dividere il campione in 2 porzioni di almeno 10 mL. Scaldare 1 porzione a 80 °C per 10 minuti e raffreddarla rapidamente. Non riscaldare l'altra porzione.
- Utilizzare 10 mL o la quantità corrispondente a 1 g, o 1 mL del prodotto da esaminare di entrambe le porzioni per inoculare quantità adeguate di Clostridium Broth (REF 401304).
- Incubare in condizioni anaerobiche a 30-35°C per 48 h.
- Dopo l'incubazione, effettuare subcolture da ciascun contenitore su piastre Columbia Agar EP e incubare in condizioni anaerobiche a 30-35°C per 48-72 h.

10-LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare le caratteristiche morfologiche e cromatiche specifiche delle colonie.

Il verificarsi di crescita anaerobica di bastoncini (con o senza endospore) che danno una reazione catalasi negativa indica la presenza di clostridi. Ciò è confermato da test di identificazione.

11-CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative



vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO <i>C. sporogenes</i> ATCC 19404	INCUBAZIONE/ T°/ t / ATM 30-35°C / 48 h / AN	RISULTATI ATTESI buona crescita
---	---	------------------------------------

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

12-CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima dell'immissione in commercio, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Columbia Agar EP disidratato viene testato per la produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività viene verificata mediante un test quantitativo con *C. sporogenes* ATCC 19404: le piastre vengono inoculate con diluizioni decimali in soluzione fisiologica di sospensioni di colonie e incubate a 30-35°C per 48 ore in atmosfera anaerobica. Le colonie vengono enumerate su entrambi i lotti e viene calcolato il rapporto di produttività (Pr). Se Pr è $\geq 0,7$ i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche. Inoltre le caratteristiche di produttività sono testate mediante tecnica ecometrica semiquantitativa con i seguenti ceppi: *C. perfringens* ATCC 13124 e *C. sporogenes* ATCC 19404. Dopo l'incubazione viene valutata e registrata la crescita. Tutti i ceppi mostrano una buona crescita.

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.
- 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











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).

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

- Ellner PD, Stoessel CJ, Drakeford E, Vasi, F. A new culture medium for medical bacteriology. Am. J. Clin. Path 1966; 45: 502-504.
- Atlas D, Snyder J. Media Reagents and Stains. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington,DC: American Society for Microbiology; 2015. p.345.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	o  REF	 LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	
 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 2	Aggiornamento del contenuto e del layout	07/2022

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

