

ChromArt

E.C.O.A.GAR

(ENTEROCOCCUS CHROMOGENIC OTTAVIANI & AGOSTI AGAR)

Terreno in polvere, supplemento selettivo e piastre pronte



E.C.O.A.gar:
colonie di *Enterococcus* sp. (blu)
e di contaminanti

1 - DESTINAZIONE D'USO

Terreno di base in polvere e supplemento selettivo per l'isolamento, il conteggio e la conferma presuntiva degli enterococchi nell'acqua, latte, alimenti.

2- COMPOSIZIONI*

E.C.O.A.GAR - TERRENO IN POLVERE - FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIOGLIMENTO IN ACQUA)

Peptoni	28,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Glucosio	1,00 g
Tampone fosfati	5,00 g
Agar	15,00 g
Agenti emulsionanti	5,70 g
Substrati cromogeni	180,0 mg
Composti selettivi	26,00 mg

KANAMYCIN SELECTIVE SUPPLEMENT

CONTENUTO DEL FLACONE PER 500 ML DI TERRENO

Kanamicina solfato	10 mg
--------------------	-------

E.C.O.A.GAR -PIASTRE PRONTE

E.C.O.A.gar, terreno in polvere	60 g
Kanamicina solfato	20 mg
Acqua purificata	1000 mL

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

E.C.O.A.gar è un terreno selettivo e cromogeno per l'isolamento, il conteggio e la conferma presuntiva degli enterococchi nell'acqua, latte, alimenti e campioni clinici. È preparato in accordo alla formulazione sviluppata da F. Ottaviani e M. Agosti.¹ La selettività del terreno è ottenuta con una miscela di sostanze antimicrobiche incluse nel terreno di base e con l'aggiunta, dopo sterilizzazione, della kanamicina solfato.

Il terreno non contiene azide sodica, non è da considerarsi pericoloso e quindi non necessita di particolari precauzioni per l'uso e lo smaltimento.

Le caratteristiche differenziali del terreno sono dovute ad una miscela di composti cromogeni per la determinazione di specifici enzimi degli enterococchi. Rispetto ai tradizionali terreni KAA e KF il terreno E.C.O.A.gar si è dimostrato capace di individuare anche i ceppi di *Enterococcus* che, privi dei complessi enzimatici specifici (ad esempio per l'idrolisi dell'esculina), non formano colonie tipiche: in particolare il ceppo di *Enterococcus avium* FAIR-E101, i ceppi di *Enterococcus faecium* FAIR-E 102, E130, E 131, ed E-338, di *Enterococcus hirae* FAIR-E 174, e di *Enterococcus malodoratus* FAIR-E168 ed E169, tutti provenienti dalla BCCM/LMG Bacteria Collection dell'Università di Gent (B)¹.

4- PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 30 g in 500 ml di acqua distillata. Portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 48-50°C ed aggiungere il contenuto di una fiala di Kanamycin Selective Supplement (REF 4240055), ricostituita con 5 ml di acqua distillata sterile. Mescolare bene per risospendere il precipitato e distribuire in piastre di Petri.

5 - CARATTERISTICHE CHIMICO-FISICHE

Aspetto del terreno disidratato	polvere fine di colore beige
Aspetto del terreno in piastra	violetto molto tenue, limpido.
Aspetto del supplemento selettivo	pastiglia compatta, bassa, bianca; soluzione limpida incolore dopo ricostituzione
pH finale del terreno completo (20-25°C)	7.2 ± 0.2

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
E.C.O.A.gar	Terreno in polvere	4014302	500 g (8,3 L)
Kanamycin Selective Supplement	Supplemento selettivo	4240055	10 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno
E.C.O.A.gar	Piastre pronte	491430	30 piastre ø 55 mm

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, apparato e membrane per la filtrazione dei campioni, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

8 - CAMPIONI

Acque, alimenti, mangimi, campioni della filiera alimentare. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni operare in accordo alle norme di buona prassi di laboratorio e fare riferimento alle norme ed agli Standard internazionali applicabili.



9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Il terreno può essere impiegato in accordo alle tradizionali tecniche di laboratorio e seminato in superficie, in profondità o con il metodo delle membrane filtranti e con incubazione a 37°C per 24 ore. Il terreno E.C.O.A.gar garantisce al Laboratorio i seguenti vantaggi:

- recupero degli enterococchi superiore a quello dei tradizionali terreni KAA e KF in virtù del più elevato potere differenziale;
- maggiore sicurezza per gli operatori a causa dell'assenza dell'azide sodica;
- limitato impatto ambientale, e più semplice gestione dei rifiuti di laboratorio, a causa dell'assenza di azide sodica.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica delle colonie.

Gli enterococchi crescono dopo incubazione a 37°C per 24 ore con colonie verde-blu.

Le rare colonie di ceppi di non-enterococchi, resistenti agli antimicrobici del terreno, crescono con colonie incolori, grigio-viola o rosso magenta o con pigmentazione naturale.

11 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

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, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE		SPECIFICHE
	ATCC	T° / T / ATM	
<i>E. faecalis</i>	ATCC 29212	37°C / 24H / A	buona crescita, colonie blu
<i>E. faecium</i>	ATCC 19434	37°C / 24H / A	buona crescita, colonie blu
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	37°C / 24H / A	crescita inibita
<i>S. aureus</i>	ATCC 25923	37°C / 24H / A	crescita inibita

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

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di E.C.O.A.gar in polvere e pronto all'uso in piastra vengono testati per la produttività e la selettività, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

Le caratteristiche di produttività sono testate mediante tecnica ecometrica semiquantitativa con i seguenti ceppi target: *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecalis* ATCC 33186, *E. faecium* ATCC 19434, *E. hirae* ATCC 8043. Dopo incubazione a 37°C per 24 ore, i ceppi target mostrano una buona crescita con colonie blu.

La selettività è valutata con il metodo i Miles-Misra modificato, inoculando le piastre con gocce di diluizioni decimali adeguate in soluzione fisiologica di una sospensione di 0,5 McFarland dei seguenti ceppi non-target: *S. mitis* ATCC 9811, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* ATCC 10005, *P. aeruginosa* ATCC 27853. La crescita di ceppi non-target è totalmente inibita dopo incubazione a 37°C per 24 ore.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- I prodotti qui descritti sono da impiegare per controlli microbiologici, sono per uso professionale e devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il terreno di coltura ed il supplemento qui descritti devono essere usati congiuntamente in accordo al metodo di preparazione indicato.
- I terreni in polvere ed i supplementi contenenti antibiotici devono essere manipolati con adeguate protezioni. Kanamycin Selective Supplement è classificato come pericoloso. Prima dell'uso consultare le schede di sicurezza.
- Il terreno di coltura in polvere e pronto all'uso in piastra qui descritti contengono 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 questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare i prodotti 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, supplemento o agenti microbici.
- Prestare attenzione all'apertura dell'anello metallico dei supplementi per evitare lesioni.
- Il supplemento è sterilizzato mediante filtrazione a membrana.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno di base ed il supplemento non utilizzati ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiali per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza dei prodotti qui descritti 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

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. Eliminare se vi sono segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, disidratazione, restringimenti



**Terreno di coltura in polvere**

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).

Supplemento liofilizzato

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. Una volta aperto il flacone e ricostituito il liofilizzato, la soluzione ottenuta deve essere usata immediatamente. Prima dell'uso esaminare il liofilizzato e il prodotto ricostituito per rilevare segni evidenti di deterioramento (es. contaminazione, colore alterato o altra caratteristica anomala).

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 - BIBLIOGRAFIA

- Ottaviani F, Ottaviani M, Agosti, M. (2001). Comunicazione personale

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF or 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> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Lato superiore	Proteggere dalla luce	Monouso

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 4	Introduzione di nuovi capitoli. Modifiche del contenuto dei capitoli "Precauzioni ed avvertenze", "Conservazione e validità" e del layout.	07/2021
Revisione 5	Modifiche ai capitoli 13 e 14; inserimento del capitolo "Valutazione delle prestazioni"	01/2023

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

