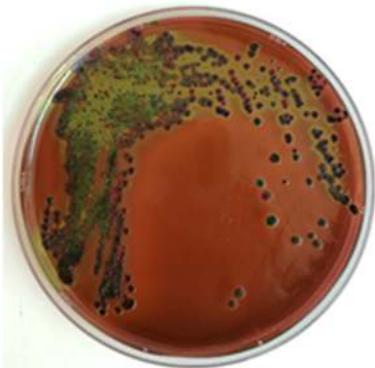




# EO. ME. BLUE AGAR WITH LACTOSE AND SUCROSE

Terreno di coltura in polvere



Eo.Me.Blue Agar with Lactose and Sucrose: colonie di *E.coli*

## 1 – DESTINAZIONE D'USO

Per l'isolamento di *Enterobacteriaceae* e per la differenziazione di microrganismi fermentanti il lattosio/saccarosio.

## 2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA \*

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

Triptone	10,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Lattosio	5,00 g
Saccarosio	5,00 g
Potassio fosfato bibasico	2,00 g
Blu di metilene	0,065 g
Eosina giallastra	0,40 g
Agar	15,00 g

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

## 3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Eo.Me.Blue Agar with Lactose and Sucrose è preparato sulla base della formulazione descritta da Holt-Harris & Teague nel 1916.<sup>1</sup> Rispetto alla formula modificata di Levine<sup>2</sup>, questo terreno contiene saccarosio oltre al lattosio che viene fermentato da alcuni batteri enterici più facilmente del lattosio.

Eo.Me.Blue Agar with Lactose and Sucrose è un terreno versatile, moderatamente selettivo per l'isolamento e la differenziazione di *Enterobacteriaceae* basato sulla fermentazione di lattosio e saccarosio, da una varietà di campioni. La contemporanea presenza di lattosio e saccarosio permette di differenziare i patogeni lattosio e saccarosio-negativi dai coliformi lattosio-positivi e dalla flora lattosio-negativa, saccarosio-positiva (es. *Proteus vulgaris*, *Citrobacter*, *Aeromonas hydrophila*)

Il peptone fornisce azoto, carbonio, minerali per la crescita microbica; il giallo eosina e il blu di metilene hanno una leggera attività inibitoria nei confronti dei microrganismi Gram-positivi; il rapporto ottimale tra i contenuti dei due coloranti è necessario per la differenziazione di batteri enterici fermentanti il lattosio/saccarosio da quelli non fermentanti il lattosio/saccarosio. Il tampone fosfato consente la differenziazione tra *E. coli* ed *E. aerogenes*. *E. coli* provoca una notevole acidificazione del terreno anche in presenza di un sistema tampone, mentre *E. aerogenes*, essendo solo leggermente fermentante, provoca una minore acidificazione. L'abbassamento del pH durante la crescita di *E. coli*, provoca la formazione di legami ammidici tra l'eosina e il blu di metilene, che si manifesta con una colorazione porpora metallica delle colonie.

## 4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 42,5 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione con agitazione frequente e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a circa 50°C e prima della distribuzione nelle piastre, agitare delicatamente per disperdere il precipitato flocculante che si forma durante la sterilizzazione. Il precipitato flocculante non deve essere rimosso.

## 5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, viola
Aspetto della soluzione e delle piastre	viola con riflessi metallici, flocculante, velato
pH finale (20-25 °C)	7,2 ± 0,2

## 6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Eo.Me.Blue Agar with Lactose and Sucrose	Terreno di coltura in polvere	40145012	500 g (11,7 L)

## 7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e tamponi sterili, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, piastre Petri, beute, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

## 8 – CAMPIONI

Eo.Me.Blue Agar with Lactose and Sucrose è destinato all'analisi batteriologica di una varietà di campioni su cui rilevare *Enterobacteriaceae*. Applicare le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni.

## 9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Lasciare che le piastre raggiungano la temperatura ambiente e che si asciughi la superficie del terreno.

Inoculare e strisciare il campione con un'ansa sui quattro quadranti della piastra per ottenere colonie ben isolate, assicurandosi che le sezioni 1 e 4 non si sovrappongano. In alternativa, se il materiale viene seminato direttamente da un tampone, far rotolare il tampone su una piccola area sul bordo della superficie; quindi strisciare da questa area inoculata.

Incubare in condizioni aerobiche a 35-37°C per 18-24 ore.

## 10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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

Le colonie di *E. coli* hanno un diametro di 2-3 mm, leggermente rilevate, concave, raramente convesse; sono viola-ciclamino con centro più scuro che si estende per circa 3/4 del diametro, con riflessi metallici verdastri.

Le colonie di *E. aerogenes* sono convesse con un diametro di circa 4-6 mm, di colore dal rosa al lavanda, con un centro più scuro più piccolo di quello osservato con *E. coli*; sono normalmente privi di lucentezza metallica verdastra.

Le colonie di fermentatori di saccarosio come *Proteus* spp. sono viola e il terreno può presentare riflessi metallici.

Le colonie dei fermentatori non lattosio/saccarosio (*Salmonella*, *Shigella*) sono trasparenti, ambra o rosa o incolori.

## 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.





CEPPI DI CONTROLLO  
*E. coli* ATCC 25922  
*E. aerogenes* ATCC 13048  
*S. Typhimurium* ATCC 14028  
*E. faecalis* ATCC 19433

INCUBAZIONE T° / T - ATM  
 35-37°C / 18-24 H / A  
 35-37°C / 18-24 H / A  
 35-37°C / 18-24 H / A  
 35-37°C / 18-24 H / A

RISULTATI ATTESI  
 crescita, colonie viola-ciclamine con centro più scuro e riflessi metallici  
 crescita, colonie rosa scuro  
 crescita, colonie incolore o biancastre  
 crescita parzialmente inibita

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

### 12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima dell'immissione in vendita, un campione rappresentativo tutti i lotti di Eo.Me.Blue Agar with Lactose and Sucrose vengono testati per produttività e selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività è testata con tecnica eometrica semiquantitativa, incubando a 37°C per 24 ore, con i seguenti ceppi Gram-negativi: *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 8739, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *C. freundii* ATCC 8090, *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. flexneri* ATCC 12022, *P. vulgaris* ATCC 9484, *P. mirabilis* ATCC 10005. Dopo l'incubazione vengono valutati e registrati i colori e le caratteristiche delle colonie e l'entità della crescita. Tutti i ceppi crescono con colonie tipiche e la crescita è paragonabile in entrambi i lotti. La selettività viene valutata con metodo Miles-Misra modificato in superficie inoculando le piastre con opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione McFarland 0,5 dei ceppi Gram positivi non target *E. faecalis* ATCC 19433 e *S. aureus* ATCC 25923. Ceppi non target sono parzialmente inibiti e crescono con colonie puntiformi incolore.

### 13 – LIMITI DEL METODO

- Eo.Me.Blue Agar with Lactose and Sucrose è solo moderatamente selettivo; alcuni stafilococchi, streptococchi e lieviti crescono esibendo piccole colonie puntiformi.<sup>3</sup>
- Alcuni ceppi di *Salmonella* e *Shigella* non crescono sul terreno.<sup>3</sup>
- Conservare il terreno preparato al buio a 2-8°C; i coloranti fotosensibili nel terreno possono inibire la crescita di alcuni batteri, principalmente *Proteus*, se conservati alla luce.<sup>4</sup>
- Anche se le colonie microbiche presenti sulle piastre sono differenziate in base alle loro caratteristiche morfologiche e cromatiche, eseguire gli opportuni test sugli isolati da pura coltura per una completa identificazione.

### 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](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 Buone Pratiche di Fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura preparati in laboratorio.
- 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](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

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). Secondo MacFaddin le piastre preparate possono essere conservate al buio a 2-8°C per 6-8 settimane.<sup>3</sup>

### 16 - REFERENCES

- Holt-Harris JE, Teague O. A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosus* from stools. *J Inf Dis* 1916; 18:596-600
- Levine M. Differentiation of *B coli* and *B aerogenes* on a simplified eosin-methylene blue agar *J Inf Dis* 1918; 23:43-47
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
- Girolami RL Stamm JM (1976) Inhibitory Effect of Light on Growth-Supporting Properties of Eosin Methylene Blue Agar. [Appl Environ Microbiol](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1091141/) 1976;31: 141-142

### 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 4	Aggiornamento del contenuto e del Layout	05/2023

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

