

ChromArt

EC X-GLUC AGAR (CHROMOGENIC E. COLI)

Terreno di coltura in polvere, in piastre pronte all'uso ed in flaconi.


 EC X-GLUC Agar:
E. coli ATCC 25922 su membrana filtrante

1 - DESTINAZIONE D'USO

 Terreno cromogeno per il conteggio di *Escherichia coli* nelle acque e negli alimenti.

2 - COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA)*

Tryptone	20,00 g
Estratto di lievito	5,00 g
Sali biliari n. 3	1,50 g
Sodio fosfato bibasico	5,00 g
Potassio fosfato monobasico	1,50 g
Sodio cloruro	5,00 g
X-GLUC	0,06 g
Triptofano	1,00 g
Agar	12,00 g

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

 EC X-GLUC Agar (Chromogenic E. coli), è un terreno selettivo e differenziale per il conteggio e l'identificazione immediata di *Escherichia coli*. Il terreno è indicato dalla norma UNICHIM n° 1185¹ per la determinazione di *E. coli* con la tecnica MF nelle acque e dalla rassegna dei metodi per le acque ISSN:1125-2464².

 Il terreno contiene sali biliari e risulta essere inibitorio per i batteri Gram positivi. L'azione differenziale è esplicata dal substrato cromogeno X-GLUC (5-bromo-4-cloro-3 indolil β-D-glucuronide), l'idrolisi del quale, attraverso l'enzima β-glucuronidasi, dà luogo alla formazione di un pigmento blu-verde. *E. coli*, tra gli enterobatteri, è una delle poche specie β-glucuronidasi positiva, insieme a qualche ceppo di *Salmonella* e *Shigella*, e quindi coltiva sul terreno con colonie blu o verde-blu. Gli enterobatteri beta glucuronidasi negativi, coltivano con colonie incolori.

Sulle colonie coltivate su EC X-GLUC Agar è possibile eseguire il test diretto dell'indolo, depositando una goccia di reattivo di Kovacs' (codice 19171000) ed osservando per il viraggio al rosso del reattivo.

 Natali e coll.³ hanno valutato l' EC X-GLUC Agar con ceppi microbici isolati da campioni di acque ad hanno concluso che l'EC X-GLUC Agar fornisce risultati migliori rispetto al Levine EMB Agar e al Mac Conkey Agar MUG nell'identificazione di *E. coli*.

4A- PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 51 g in 1000 ml di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione fino a completa soluzione, quindi autoclavare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a circa 47-50°C e distribuire in piastre di Petri sterili da 90 mm o da 55 mm.

4B- PREPARAZIONE DEL TERRENO IN FLACONE

Scaldare in bagnomaria a 100°C portando ad ebollizione il terreno in flacone agitando di tanto in tanto. Raffreddare a circa 47-50°C e trasferire in piastre di Petri sterili da 90 mm o da 55 mm.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere

fine granulometria omogenea di colore beige

Aspetto del terreno in soluzione, in piastra ed in flacone

terreno opalescente di colore beige

pH finale a 20-25 °C

7,0 ± 0,2

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
EC X-GLUC Agar (Chromogenic E. coli) CND:W0104010101	Terreno in polvere	4019681	100 g (2 L)
EC X-GLUC Agar (Chromogenic E. coli) CND:W0104010101	Terreno in polvere	4019682	500 g (9,9 L)
EC X-GLUC Agar (Chromogenic E. coli) CND:W0104010402	Piastre pronte all'uso	497102	30 piastre 55 mm
C X-GLUC Agar (Chromogenic E. coli) CND:W0104010306	Flaconi pronti all'uso	5119672	6 flaconi da 100 ml

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, membrane ad apparati per la filtrazione del campione, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.





8 - CAMPIONI

Possono essere utilizzati campioni di acque e campioni della filiera alimentare. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, la conservazione ed il trasporto in Laboratorio dei campioni e gli Standard Interazioni pertinenti.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Il terreno può essere inoculato in profondità, in superficie o con la tecnica delle membrane filtranti seguendo i metodi convenzionali e descritti in letteratura e nelle norme citate. Incubare le piastre inoculate a $44 \pm 0,5^\circ\text{C}$ per 24 ± 2 ore.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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

- Contare come *E. coli* le colonie blu o verde-blu, confermate dal test dell'indolo.
- Esprimere i risultati come UFC/g tenendo conto del "fattore diluizione".

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 (T° / t / ATM)	RISULTATI ATTESI
<i>E.coli</i> ATCC 25922:	44°C / 24 ore / A	crescita, colonie verde-blu, indolo positive
<i>S.Typhimurium</i> ATCC 14028:	44°C / 24 ore / A	crescita, colonie incolori, indolo negative
<i>E.faecalis</i> ATCC 19433	44°C / 24 ore / A	inibito

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

12- LIMITI DEL METODO

- Alcuni ceppi di *E. coli* come *E. coli* O157:H7 e O157:H possono crescere poco o per niente con incubazione a 44°C.
- Alcuni ceppi di *E.coli*, in particolare quelli appartenenti al sierotipo O157:H7, sono per lo più β -glucuronidasi negativi.⁴ Di conseguenza, alcuni ceppi di *E. coli*, compresi quelli patogeni, non verranno rilevati con questo metodo.
- L'attività della β -glucuronidasi può essere manifestata a 44°C anche da alcuni altri membri delle *Enterobacteriaceae*, in particolare *Shigella*⁵ e *Salmonella*⁶.

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.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare le schede di sicurezza.
- Il terreno di coltura in polvere e pronto all'uso 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 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.
- 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.
- Fare attenzione quando si aprono i flaconi con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Il terreno pronto in flacone è soggetto a sterilizzazione terminale in autoclave a vapore.
- 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

Terreno in polvere - Conservare a $+2^\circ\text{C}$ / $+8^\circ\text{C}$ 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 o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

Piastre pronte all'uso - Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a $2-8^\circ\text{C}$ al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a $2-8^\circ\text{C}$. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, rotture dell'agar, colore alterato).





Flaconi pronti all'uso - Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Dopo l'apertura della scatola, i flaconi possono essere utilizzati fino alla data di scadenza. Prima dell'uso verificare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Non utilizzare i flaconi se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione microbica, colore alterato). Il terreno in flacone può essere sciolto a 100°C per una sola volta.

15 - BIBLIOGRAFIA

- Unichim n° 1185: 2000.
- Bonadonna L. *Escherichia coli* nelle acque significato sanitario e metodologie di analisi. ISSN:1125-2464, 2001
- Natali, P., Neri, A. Rossi, P., Ferrari, M. (1999) *Biologi Italiani*, n° 10/99, 20-22
- Feng P, Lampel KA, Karch H, Whittam TS. Genotypic and phenotypic changes in the emergence of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Infect. Dis.* 177: 1750–1753.
- Kilian M. & Bulow P. Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. Detection of bacterial glycosidases. *Acta Pathol Microbiol Scand Sect B.* 1976, 84: 245–251
- Le Minor, Buissonière J, Novel G, Novel M. Relation entre le sérotype et l'activité β-glucuronidasique chez les *Salmonella*. *Ann Microbiol (Paris)* 1978; 129B (2) :155–165.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF o REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Non riutilizzare	Imballaggio riciclabile Lato superiore
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Utilizzare entro	Fragile maneggiare con cura	Proteggere dalla luce diretta

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 4	Modifiche del contenuto dei capitoli "Limiti del metodo", "Precauzioni ed avvertenze", "Conservazione e validità", "Bibliografia" e del layout.	07/2021

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

