



Enterococco Agar

Selective medium for detection of group D streptococci from clinical and nonclinical specimens.

INTENDED PURPOSE

Enterococco Agar is a selective medium used for the isolation and enumeration of faecal streptococci (group D) from clinical and nonclinical specimens. This medium is intended as an aid in the diagnosis, requiring further identification tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

This medium is based on a standard formulation (Bile Aesculin Azide Agar) outlined in ISO 7899-2 for confirmation and enumeration of intestinal enterococci in water. With a higher concentration of sodium azide Enterococco Agar is suitable for isolation of pure cultures from clinical specimens containing mixed flora.

TYPICAL FORMULA*	(g/litre)
Tryptone	17.0
Peptone	3.0
Yeast Extract	5.0
Sodium Chloride	5.0
Ox Bile, dehydrated	10.0
Aesculin	1.0
Ferric Ammonium Citrate	0.5
Sodium Azide	0.25
Agar	15.0
Final pH 7.1 ± 0.2 at 25°C	

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

METHOD PRINCIPLE

Tryptone and peptone provide amino acids, carbon, nitrogen, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. Bile inhibits Gram-positive bacteria other than enterococci. The glycoside aesculin is hydrolyzed from enterococci to give aesculetin and glucose. Aesculetin reacts with iron ions into the medium to form a dark brown or black complex. Sodium azide suppresses the accompanying Gram-negative microbial flora. Agar is the solidifying agent.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: Autoclave, water bath, sterile Petri plates, test tubes, inoculating loops, swabs, incubator, quality control organisms.

SPECIMENS

All types of clinical specimens. Specimens should be sampled at the acute stage, before antimicrobial therapy (where possible) and examined as soon as possible after collection. Good laboratory practices for collection, transport and storage of the clinical specimens should be applied. Refer to specific guidelines for more information about specimen collection and preparation.

TEST PROCEDURE

Inoculate the plates by directly streaking the specimen on the agar surface or spread the sample from an enrichment culture to obtain well-isolated colonies.

Incubate aerobically at 35 ± 2°C for 24-48 h.

For more details, consult appropriate guidances.

INTERPRETING RESULTS

Regard all typical colonies showing a brown to black colouration in the surrounding medium as giving a positive aesculin reaction and count as group D streptococci (*Enterococcus* spp. and *Streptococcus bovis*).

Note: Further testing should be conducted to confirm the presumptive identification of organisms isolated on this medium.

STORAGE

Store plates at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

6 months.

QUALITY CONTROL

Appearance of the Medium: Slightly opalescent, dark amber.

Expected Cultural Response:

Control strain	Inoculum	Incubation	Criteria	Specification	
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087 (ATCC® 29212; NCTC 12697)	50-100 CFU	24-48 h / 35 ± 2°C	Good growth (P _R ≥ 0.5)	Blackening around colonies
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009 (ATCC® 19433; NCTC 775)				
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC® 19615 (NCTC 12696)	10 ⁴ -10 ⁶ CFU	Inhibition (partial to complete)	Colourless colonies	
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 (ATCC® 25922; NCTC 12241)				

A productivity ratio (P_R) of 0.5 is equivalent to a recovery rate of 50%.

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of Enterococco Agar was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

LIMITATIONS

Invalid results can be caused by poor specimen quality, improper sample collection, improper transportation, improper laboratory processing, or a limitation of the testing technology. The operator should understand the principles of the procedures, including its performance limitations, in advance of operation to avoid potential mistakes.

Due to nutritional variation, some strains may result in poor growth or fail to grow on this medium. Additional agar media, such as Columbia agar with 5% sheep blood, should be used alongside the Enterococco Agar for primary isolation.

Organisms other than enterococci and *S. bovis* may be aesculin positive and may grow on this medium (e.g., *Pediococcus* and *Lactococcus* species).

Enterococco Agar is intended as an aid in the diagnosis of infectious diseases, requiring further tests to complete the diagnostic results. All identification tests should ideally be performed from non-selective agar.

WARNING AND PRECAUTIONS

- 1) **For *in vitro* diagnostic use (IVD).**
- 2) **For laboratory professional use only.**
- 3) Operators must be trained and have certain experience. Please read the instructions carefully before using the product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.
- 4) Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.
- 5) Do not use if the product or packaging appears to be damaged.
- 6) Follow standard precautions. All patient specimens should be considered potentially infectious and handled accordingly.
- 7) Handle all specimens as if infectious using safe laboratory procedures. Dispose of hazardous or biologically contaminated materials according to the practices of your institution.
- 8) Avoid cross-contamination of samples by using disposable tips and changing them after each sample.
- 9) Do not mix reagents of different batches. Please use the product within the validity period.
- 10) Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics or handle contact lenses in areas where reagents and human specimens are handled
- 11) Results should be interpreted by a trained professional in conjunction with the patient's history and clinical signs and symptoms, and epidemiological risk factors.

- 12) Ensure laboratory equipment is calibrated and maintained in accordance with the laboratory's procedure.
- 13) When test results are transmitted from the laboratory to an informatics centre, attention has to be done to avoid erroneous data transfer.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

See the references at the end of this document.

TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of this document.

The product is available in the configurations listed below. There may be additional product ref. numbers as well. For an updated listing of available products, visit liofilchem.com

Product	Format	Packaging	Ref.
Enterococco Agar	Plate 90 mm	20 plates	11057

Significant changes from previous version:

Document	Release Date	Change Summary
11057_IFU-0	2022-10-12	Document creation (layout and content in compliance with IVDR 2017/746)

This IFU document and the SDS are available from the online Support Center:

liofilchem.com/ifu-sds



Enterococco Agar

Terreno selettivo per la ricerca di streptococchi di gruppo D da campioni clinici e non clinici.

USO PREVISTO

Enterococco Agar è un terreno selettivo utilizzato per l'isolamento e il conteggio di streptococchi fecali (gruppo D) da campioni clinici e non clinici. Questo terreno è inteso come ausilio alla diagnosi e si necessita di ulteriori test di identificazione per completare i risultati diagnostici.

DESCRIZIONE

Questo terreno è basato su una formulazione standardizzata (Bile Aesculin Azide Agar) descritta nella ISO 7899-2 per la conferma ed il conteggio degli enterococchi intestinali nelle acque. Con una concentrazione maggiore di sodio azide, Enterococco Agar è adatto per l'isolamento di colture pure da campioni clinici contenenti una flora mista.

FORMULA TIPICA*

	(g/litro)
Tryptone	17.0
Peptone	3.0
Estratto di Lievito	5.0
Sodio Cloruro	5.0
Bile di Bue, disidratata	10.0
Esculina	1.0
Ammonio Citrato Ferrico	0.5
Sodio Azide	0.25
Agar	15.0
pH Finale 7.1 ± 0.2 a 25°C	

*Adattata e/o integrata per soddisfare le specifiche di performance richieste.

PRINCIPIO DEL METODO

Tryptone e peptone forniscono aminoacidi, carbonio, azoto, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo B. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. La bile inibisce i batteri Gram-positivi, tranne gli enterococchi. L'esculina è un glucoside idrolizzato dagli enterococchi per dare esculetina e glucosio. L'esculetina reagisce con gli ioni ferro presenti nel terreno per formare un complesso di colore marrone scuro o nero. Il sodio azide sopprime i batteri Gram-negativi presenti nella flora microbica contaminante. L'agar è l'agente solidificante.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e apparecchiature microbiologiche standard come: autoclave, bagnomaria, piastre Petri sterili, provette, anse da inculo, tamponi, incubatore, microrganismi per il controllo qualità.

CAMPIONI CLINICI

Tutti i tipi di campioni clinici. I campioni devono essere prelevati nella fase acuta, prima della terapia antimicrobica (ove possibile) ed esaminati il prima possibile dopo il prelievo. Applicare le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici. Fare riferimento alle linee guida specifiche per maggiori informazioni sulla raccolta e la preparazione dei campioni.

PROCEDURA DEL TEST

Inoculare le piastre strisciando direttamente il campione sulla superficie dell'agar o eseguire la semina da una coltura di arricchimento cercando di ottenere colonie ben isolate.

Incubare in aerobiosi a 35 ± 2°C per 24-48 h.

Per maggiori dettagli, consultare le guide appropriate.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Considerare e contare come streptococchi di gruppo D (*Enterococcus* spp. e *Streptococcus bovis*) tutte le colonie tipiche che mostrano una colorazione da marrone a nera nel terreno circostante (reazione positiva all'esculina).

Nota: Sono necessari ulteriori test per confermare l'identificazione presunta dei microrganismi isolati su questo terreno.

CONSERVAZIONE

Conservare le piastre a 10-25°C al riparo dalla luce. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata in etichetta o se il prodotto presenta segni di contaminazione o di deterioramento.

VALIDITÀ

6 mesi.

CONTROLLO QUALITÀ

Aspetto del Terreno: Leggermente opalescente, verdastro tendente al marrone.

Risultati Attesi dei Test Culturali:

Ceppi di controllo		Inoculo	Incubazione	Criteri	Specifiche
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087 (ATCC® 29212; NCTC 12697)	50-100 UFC	24-48 h / 35 ± 2°C	Crescita buona ($P_R \geq 0.5$)	Annerimento attorno alle colonie
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009 (ATCC® 19433; NCTC 775)				
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC® 19615 (NCTC 12696)	10 ⁴ -10 ⁶ UFC		Inibizione (parziale o completa)	Colonie incolori
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 (ATCC® 25922; NCTC 12241)				

Un rapporto di produttività (P_R) di 0.5 è equivalente ad un tasso di recupero del 50%.

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

I test di performance per Enterococco Agar sono stati effettuati utilizzando i ceppi CQ sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

LIMITAZIONI

Risultati non validi possono essere causati da una scarsa qualità del campione, da una raccolta impropria del campione, da un trasporto improprio, da un processamento improprio in laboratorio o da una limitazione della tecnologia di analisi. L'operatore deve comprendere i principi delle procedure, compresi i limiti nelle prestazioni, prima delle singole operazioni per evitare potenziali errori.

A causa della diverse esigenze nutrizionali, alcuni ceppi possono mostrare una crescita scarsa o non crescere affatto su questo terreno. Altri terreni solidi, come ad esempio il Columbia agar con 5% sangue di montone, devono essere utilizzati insieme all'Enterococco Agar per l'isolamento primario.

Altri microrganismi all'infuori di enterococchi e *S. bovis* possono crescere su questo terreno e risultare positivi alla reazione dell'esculina. (es. *Pediococcus* spp. e *Lactococcus* spp.)

Enterococco Agar è inteso come ausilio nella diagnosi di malattie infettive, richiedendo ulteriori test per completare i risultati diagnostici. Tutti i test di identificazione dovrebbero idealmente essere eseguiti da un agar non selettivo.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- 1) Per uso diagnostico in vitro (IVD).**
- 2) Solo per uso professionale di laboratorio.**
- Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare il prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni contenute in questo documento.
- Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle pratiche di manipolazione sicure.
- Non utilizzare se il prodotto o la confezione sembrano danneggiati.
- Seguire le precauzioni standard. Tutti i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infetti e maneggiati di conseguenza.
- Maneggiare tutti i campioni come infetti utilizzando procedure di laboratorio sicure. Smaltire materiali pericolosi o biologicamente contaminati secondo le pratiche del proprio istituto.

- 8) Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando puntali monouso e sostituendole dopo ogni campione.
- 9) Non mescolare reagenti di lotti diversi. Si prega di utilizzare il prodotto entro il periodo di validità.
- 10) Non mangiare, bere, fumare, applicare cosmetici o maneggiare lenti a contatto nelle aree in cui vengono manipolati reagenti e campioni umani.
- 11) I risultati devono essere interpretati da un professionista qualificato insieme alla storia del paziente, ai segni e sintomi clinici e ai fattori di rischio epidemiologici.
- 12) Assicurarsi che le apparecchiature di laboratorio siano calibrate e mantenute in conformità con la procedura del laboratorio.
- 13) Quando i risultati dei test vengono trasmessi dal laboratorio a un centro informatico, è necessario prestare attenzione per evitare trasferimenti di dati errati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

Vedere i riferimenti alla fine di questo documento.

TABELLA DEI SIMBOLI

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.

Vedere l'elenco delle configurazioni disponibili per questo prodotto nella lingua inglese.












Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online:

liofilchem.com/ifu-sds

References / Riferimenti

1. Public Health England (2021) UK SMI ID 4 issue 4: Identification of *Streptococcus* species, *Enterococcus* species and morphologically similar organisms. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/1019677/ID_4i4.pdf
2. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018+Amd2:2020. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
3. Public Health England (2017) Inoculation of culture media for bacteriology. UK Standards for Microbiology Investigations. Q 5 Issue 2. <https://www.gov.uk/guidance/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (2004) Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard, 3rd ed. M22-A3. CLSI, Wayne, PA.
5. ISO 7899-2:2000. Water Quality – Detection and enumeration of intestinal enterococci. Part 2: Membrane filtration method.
6. Facklam, R.R. (1972) Recognition of group D strptococcal species of human origin by biochemical and physiological test. Appl. Microbiol., 23; 1131- 1139.
7. Isenberg, H.D., Goldber D. (1970) Laboratory studies with a selective Enterococcus medium – Appl. Microbiol. vol. 20, p. 433-436.

Table of Symbols / Tabella dei Simboli

	Batch code / Codice del lotto
	Catalogue number / Numero di catalogo
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>
	Manufacturer / Fabbricante
	Use by / Utilizzare entro
	Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura
	Temperature limitation / Limiti di temperatura
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi
	Consult instructions for use // Consultare le istruzioni per l'uso
	Do not reuse / Non riutilizzare
	Keep away from sunlight / Tenere al riparo dalla luce solare



Liofilchem® s.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330

www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com

