

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**ΠΡΟΪΟΝ: **CHROMagar™ ECC**ΚΩΔΙΚΟΙ: **010029- 050029**

Ημ. 1ης Έκδοσης:

7ος 2009

Ημ. 4ης Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το CHROMagar™ ECC είναι Χρωμογόνο μέσο για την ανίχνευση και απαρίθμηση των θετικών στη β-γλυκουρονιδάση *E. Coli* και των Κολοβακτηριδίων σε δείγματα τροφίμων και νερού.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η *Escherichia coli* και τα υπόλοιπα Κολοβακτηρίδια που είναι ικανά να ζυμώνουν τη λακτόζη είναι βακτηρίδια που υπάρχουν στην εντερική χλωρίδα του ανθρώπου των θερμόαιμων ζώων, στο χώμα και στο νερό. Τα Κολοβακτηρίδια είναι απόδειξη μόλυνσης περιβαλλοντικών δειγμάτων από κόπρανα. Η μόλυνση που οφείλεται σε Κολοβακτηρίδια και προέρχεται από ζωικά απόβλητα, αποτελείται κυρίως από *Escherichia coli* και *Klebsiella*. Υπάρχουν αυστηροί κανονισμοί για την παρουσία *E. coli* / *Coliform* σε δείγματα νερού και τροφίμων. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από τη σημασία αυτών των μικροβίων για τον καθορισμό της ασφάλειας του νερού και των τροφίμων. Οι πεπτόνες και το εκχύλισμα μαγιάς παρέχουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά στο υλικό. Το χλωριούχο νάτριο παρέχει ηλεκτρολύτες και ρυθμίζει την ωσμωτική ισορροπία του υλικού. Το άγαρ παρέχει ιχνοστοιχεία και ηλεκτρολύτες. Επίσης στερεοποιεί το υλικό. Με τη διάσπαση του χρωμογόνου β-D-glucuronide ανιχνεύουμε την παραγωγή του ενζύμου β-D-glucuronidase. Ενώ με τη διάσπαση του χρωμογόνου β-D-galactosid ανιχνεύουμε την παραγωγή του ενζύμου β-D-galactosidase. Η *E. coli* παράγει και τα δύο ένζυμα και οι αποικίες της παίρνουν πάντα σκούρο μπλε βιολετή χρώμα ένας συνδυασμός των μπλε και magenta χρωστικών ουσιών που παράγονται από τη διάσπαση των χρωμογόνων β-glucuronide και β-D-galactoside. Τα υπόλοιπα κολοβακτηρίδια, κατά τον πολλαπλασιασμό τους παράγουν μόνο β-D-galactosidase ένζυμα και οι αποικίες τους παίρνουν ροζ χρώμα από τη διάσπαση του χρωμογόνου β-D-galactosid. Οι διάφοροι τύποι αποικιών είναι εύκολα διακριτοί, ακόμα και σε μεγάλο αριθμό, κάνοντας την ταυτόχρονη απαρίθμηση της *E. coli* και των κολοβακτηριδίων μια γρήγορη και απλή διαδικασία.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Peptone and yeast extract	8.0
Chromogenic mix	4.8
NaCl	5.0
Agar	15.0

Εμφάνιση: Μπεζ διαυγές.

Τελικό pH 7.2 ± 0.2 στους 25 °C.**ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ**

Το CHROMagar™ ECC είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου. Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό). Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες. Εάν το τρυβλίο είναι ραγισμένο ή το σακουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε. Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης. Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό χωρίς ρωγμές, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης. Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση. Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλένουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι. Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους **2 – 12 °C** μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους. Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των **2 °C** δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση. Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους **6 - 25 °C** για **4 ημέρες** ή στους **25 - 40 °C** για **24 ώρες**, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

1. Διηθείστε το δείγμα μέσω της ειδικής μεμβράνης.
 2. Τοποθετήστε τη μεμβράνη στην επιφάνεια του CHROMagar™ ECC.
 3. Επωάστε το τρυβλίο στους 36 ± 2 °C για 21 ± 3 ώρες.
 4. Οι θετικές αποικίες β-D-galactosidase & β-D-glucuronidase (σκούρο μπλε βιολετί χρώμα) υπολογίζονται ως *E. coli*.
 5. Οι αποικίες β-D-galactosidase (ροζ προς κόκκινο χρώμα) υπολογίζονται ως *Coliforms*.
 6. Για να αποφευχθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα, που προκαλούνται από τα οξειδάση-θετικά βακτήρια, για παράδειγμα *Pseudomonas spp*, ελέγχουμε τις ελαφρώς γαλάζιες ή άχρωμες αποικίες (ψευδώς θετικές) για παραγωγή οξειδάσης (oxidase test).
 7. Το σύνολο των βακτηρίων *Coliforms* είναι το άθροισμα των οξειδάση αρνητικών, β-D-galactosidase θετικών αποικιών (ροζ έως κόκκινο) και όλων των αποικιών οι οποίες έχουν σκούρο μπλε βιολετή χρώμα (*E. coli*).
- Ελέγξτε τις μπλε βιολετή αποικίες για παραγωγή ινδόλης με το αντιδραστήριο konak's (επιβεβαίωση *E. coli*).

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Οι θετικές αποικίες β-D-galactosidase & β-D-glucuronidase (σκούρο μπλε βιολετί χρώμα) υπολογίζονται ως *E. coli*.

Οι αποικίες β-D-galactosidase (ροζ προς κόκκινο χρώμα) υπολογίζονται ως *Coliforms*.

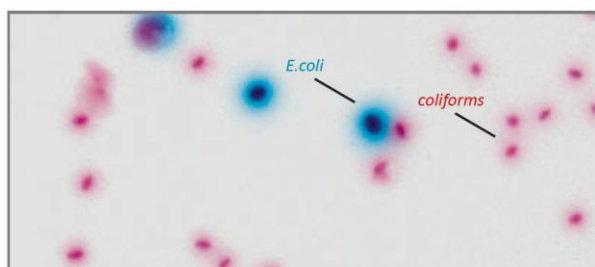
Τα Gram (+) θετικά βακτήρια δεν αναπτύσσονται.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Για να αποφευχθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα, που προκαλούνται από τα οξειδάση-θετικά βακτήρια, για παράδειγμα *Pseudomonas spp*, ελέγχουμε τις ελαφρές γαλάζιες ή άχρωμες αποικίες (ψευδώς θετικές) για παραγωγή οξειδάσης (Oxidase Test Strips-MID-61G). Το σύνολο των βακτηρίων *Coliforms* είναι το άθροισμα των οξειδάση αρνητικών, β-D-galactosidase θετικών αποικιών (ροζ έως κόκκινο) και όλων των αποικιών οι οποίες έχουν σκούρο μπλε βιολετί χρώμα (*E. coli*). Ελέγξτε τις μπλε βιολετί αποικίες για παραγωγή ινδόλης με το αντιδραστήριο konak's (επιβεβαίωση *E. coli*). Συνιστάται η διεξαγωγή βιοχημικών δοκιμών, σε αποικίες από καθαρή καλλιέργεια για πλήρη αναγνώριση.

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Μικρόβιο	Ανάπτυξη /χρώμα αποικίας
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Μπλε
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC®8090	Μοβ - κόκκινες
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC® 23355	Μοβ - κόκκινες
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 13883	Μοβ - κόκκινες
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Αναστέλλεται
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Αναστέλλεται



ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα. Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικούς μολυσματικά απόβλητα. Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

CHROMagar™ ECC - CE

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 9cm	010029	10 τεμάχια	2 – 12 °C	3 μήνες
Τρυβλίο 6cm	050029	10 τεμάχια	2 – 12 °C	3 μήνες

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepare σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714010402WH. EDMA: (14 01 04 02) Chromogenic ID Media (Plates).

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ86/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

COMPARISON OF PETRIFILM AND CHROMAGAR ECC FOR ISOLATION OF *E. COLI* FROM CHICKEN

2005. Submitted to: International Association for Food Protection Publication Date: July 15, 2005 Citation: Bailey, J.S., Cray, P.J., Berrang, M.E., Plumlee, J. 2005. Comparison of petrifilm and chromagar ecc for isolation of *e. coli* from chicken [abstract]. International Association for...

Trial report : "Comparison between CHROMagar ECC method for the detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliforms and FIL-IDF N°73B: 1998 method for the enumeration of coliforms

2001, National Institute of Industrial Technology.

Comparison and recovery of *Escherichia coli* and thermotolerant coliforms in water with a chromogenic medium incubated at 41 and 44.5°C.

1999. Alonso J. L. et al. .

1999. Applied and Environmental Microbiology, 65 : 3746-3749.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO



Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: bioprep1@otenet.gr www.bioprep1.gr



TECHNICAL DATA SHEET

PRODUCT: **CHROMagar™ ECC**

REFERENCE: **010029- 050029**



Date 1st Edition:

7th 2009

Date 4th Revision:

6th 2024

DESCRIPTION

CHROMagar™ ECC is a chromogenic medium used for the detection and enumeration of β -glucuronidase-positive *E. coli* and coliform bacteria in food and water samples.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Escherichia coli and other coliform bacteria capable of fermenting lactose are microorganisms found in the intestinal flora of humans and warm-blooded animals, as well as in soil and water. Coliforms are evidence of environmental contamination by feces. Contamination due to coliforms originating from animal waste mainly consists of *Escherichia coli* and *Klebsiella*. Strict regulations govern the presence of *E. coli* / coliforms in water and food samples, which is explained by the importance of these microorganisms in determining the safety of water and food. Peptones and yeast extract provide essential nutrients for microbial growth. Sodium chloride provides electrolytes and regulates the osmotic balance of the medium. Agar supplies trace elements and electrolytes and serves as the solidifying agent. By breaking down the chromogen β -D-glucuronide, the production of the enzyme β -D-glucuronidase is detected. In contrast, the breakdown of the chromogen β -D-galactosid detects the production of the enzyme β -D-galactosidase. *E. coli* produces both enzymes, and its colonies always form a dark blue-violet color, a combination of the blue and magenta pigments produced by the breakdown of the chromogens β -glucuronide and β -D-galactoside. Other coliforms, during their multiplication, only produce β -D-galactosidase, and their colonies turn pink due to the breakdown of the chromogen β -D-galactosid. The different types of colonies are easily distinguishable, even in large numbers, making the simultaneous enumeration of *E. coli* and coliforms a fast and simple process.

FORMULA	g/litre
Peptone and yeast extract	8.0
Chromogenic mix	4.8
NaCl	5.0
Agar	15.0

Appearance: Clear beige.

Final pH 7.2 ± 0.2 at 25 °C.

PRECAUTIONS

CHROMagar™ ECC is an in-vitro laboratory diagnostic material and should only be handled by qualified people in the laboratory. This material contains peptones and extracts of animal origin. The certificates regarding the origin and health status of the animals do not fully guarantee the absence of transmissible pathogens. For this reason, it is recommended that these materials be treated as potentially infectious, with the usual safety precautions (avoiding ingestion or inhalation). Plates should always be handled with gloves and in Laminar flow Class II, to avoid contamination mainly by saprophytic fungi. If the plate is cracked or the bag has a hole, do not use it. Do not use petri dishes if there are signs of microbial contamination. The thickness of the agar must be 4 - 5 mm and the material without cracks, dryness or other signs of deterioration. After the expiry date the material is unfit for use. In case of contact with the skin, wash immediately with plenty of water and soap. Positive samples must be destroyed according to the hygienic rules prescribed for the management of contaminated samples.

STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

The plates should be stored at **2 – 12 °C** within their packaging until use. Prolonged storage at temperatures below **2 °C** may create excess moisture within the medium, risking contamination. Freezing, even briefly, will destroy the medium. Excessive heating should also be avoided. The plates can be used up until the expiration date indicated on the label. For transportation, stability studies have shown that the plates can remain at **6 – 25 °C** for up to **4 days** or at **25 – 40 °C** for up to **24 hours** without affecting product performance.

METHOD OF USE

1. Filter the sample through the special membrane.
2. Place the membrane on the surface of the CHROMagar™ ECC.
3. Incubate the plate at 36 ± 2 °C for 21 ± 3 hours.
4. Positive colonies for β -D-galactosidase and β -D-glucuronidase (dark blue-violet color) are counted as *E. coli*.
5. Colonies positive for β -D-galactosidase (pink to red color) are counted as coliforms.
6. To avoid false positive results caused by oxidase-positive bacteria, such as *Pseudomonas spp.*, check the light blue or colorless colonies (false positives) for oxidase production (oxidase test).
7. The total number of coliform bacteria is the sum of the oxidase-negative, β -D-galactosidase-positive colonies (pink to red) and all colonies with a dark blue-violet color (*E. coli*).
8. Check the blue-violet colonies for indole production using Kovac's reagent (confirmation of *E. coli*).

READING AND INTERPRETATION

Positive colonies of β -D-galactosidase & β -D-glucuronidase (dark blue-violet color) are counted as *E. coli*. Colonies of β -D-galactosidase (pink to red color) are counted as Coliforms. Gram (+) positive bacteria do not grow.

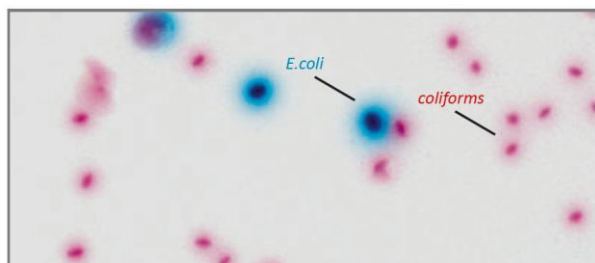
LIMITATIONS OF THE METHOD

To avoid false-positive results caused by oxidase-positive bacteria, such as *Pseudomonas spp.*, slightly bluish or colorless colonies (false positives) should be tested for oxidase production (Oxidase Test Strips - MID-61G). The total number of Coliform bacteria is the sum of the oxidase-negative, β -D-galactosidase positive colonies (pink to red) and all colonies with a dark blue-violet color (*E. coli*). Check the blue-violet

colonies for indole production using Kovac's reagent (confirming *E. coli*). It is recommended to perform biochemical tests on colonies from pure cultures for complete identification.

GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

Microorganism	Colony Growth / Color
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Blue
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC® 8090	Purple - Red
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC® 23355	Purple - Red
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 13883	Purple - Red
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Inhibited
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Inhibited



WASTE DISPOSAL OF WASTE

Materials that show no growth can be considered as non-hazardous waste and disposed of accordingly. Materials that show colony growth must be disposed of according to the guidelines for infectious or potentially infectious waste. The laboratory is responsible for the proper management of infectious waste according to its nature and level of risk and must handle and dispose of it (or assign its management and disposal) in compliance with the applicable regulations.

SPECIFICATIONS

CHROMagar™ ECC - CE

ITEM	CODE	PACKAGE	STORAGE	SHELF LIFE
9 cm Plate	010029	10 pieces	2 – 12 °C	3 months
6 cm Plate	050029	10 pieces	2 – 12 °C	3 months

Produced in Greece by Bioprep Company in accordance with Regulation (EU) 2017/746.

Basic UDI-DI: 5212037714010402WH. EDMA: (14 01 04 02) Chromogenic ID Media (Plates).

Bioprep Company is certified according to the following standards: EN ISO 9001:2015 / ELOT EN ISO 13485:2016, DY85/1348/2004.

REFERENCES

COMPARISON OF PETRIFILM AND CHROMAGAR ECC FOR ISOLATION OF *E. COLI* FROM CHICKEN

2005. Submitted to: International Association for Food Protection Publication Date: July 15, 2005 Citation: Bailey, J.S., Cray, P.J., Berrang, M.E., Plumlee, J. 2005. Comparison of petrifilm and chromagar ecc for isolation of *e. coli* from chicken [abstract]. International Association for ...

Trial report : "Comparison between CHROMagar ECC method for the detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliforms and FIL-IDF N°73B: 1998 method for the enumeration of coliforms

2001, National Institute of Industrial Technology.

Comparison and recovery of *Escherichia coli* and thermotolerant coliforms in water with a chromogenic medium incubated at 41 and 44.5°C.

1999. Alonso J. L. et al. .

1999. Applied and Environmental Microbiology, 65 : 3746-3749.

IN VITRO MANUFACTURER'S DATA



G. PAPANIKOLAOU & CO

PRODUCTION LABORATORIES OF CULTURE MEDIA

Potamou 5, Industrial Area Keratea, Attica

P.O. Box: 4893, Postal Code: 9001 - Tel: +30 2299066113. Fax: +30 2299066112

E-mail: bioprep1@otenet.gr

www.bioprep.gr