

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**ΠΡΟΪΟΝ: **CHROMagar™ Enterobacteria**ΚΩΔΙΚΟΙ: **010768 - 050768**Ημ. 1^{ης} Έκδοσης:

5ος 2012

Ημ. 4^{ης} Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το CHROMagar™ Enterobacteria είναι Χρωμογόνο μέσο για την ανίχνευση και απαρίθμηση των *Εντεροβακτηριδίων*.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα *Εντεροβακτηρίδια* και τα κολοβακτηρίδια αυτής της οικογένειας αντιπροσωπεύουν δύο από τις πιο κοινές ομάδες οργανισμών δεικτών που χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία τροφίμων. Σε ορισμένες χώρες, ανάλογα με τις ρυθμιστικές απαιτήσεις, η βιομηχανία τροφίμων έχει προχωρήσει σε δοκιμές για *Enterobacteriaceae*. ILSI Europe (International Life Sciences Institute). Το ISO 21528 καθορίζει μια μέθοδο για την απαρίθμηση των *Enterobacteriaceae*, που ισχύει για προϊόντα που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, σίτιση ζώων και περιβαλλοντικά δείγματα χρησιμοποιώντας VRBG ως μέσο καλλιέργειας. Η CHROMagar, σε συνεργασία με τον Δρ. Marco Agosti, έχει αναπτύξει ένα μέσο που μειώνει δραστηρικά τον φόρτο εργασίας του εργαστηρίου σε σύγκριση με το πολύ εργατικό παραδοσιακό VRBG. Το CHROMagar™ Enterobacteria είναι ένα μέσο δύο σε ένα, που επιτρέπει την ανίχνευση και τη διαφοροποίηση από το χρώμα του *E. coli* και άλλων εντεροβακτηριδίων.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

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	22.0
Chromogenic and selective mix	0.7
Mineral salts	4.9
Growth factors	3.7
Selective mix	0.01
Chromogenic mix	1 ml
Agar	11.0

Εμφάνιση: Μπεζ διαυγές.

Τελικό pH 7.4 ± 0.2 στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το CHROMagar™ Enterobacteria 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 υγιεινολογική κατάσταση των ζώων δεν εγγυούνται 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

Αφήστε τα τρυβλία CHROMagar™ Enterobacteria να ζεσταθούν σε θερμοκρασία δωματίου και η επιφάνεια να στεγνώσει πριν εμβολιασθεί. Μέθοδος διάστρωσης πλακών:

1. Παρασκευάστε δεκαδικές αραιώσεις σε αποστειρωμένο αραιωτικό με σκοπό να αναπτυχθούν 30-300 CFU ανά τρυβλίο.
2. Ασηπτικά ενοφθαλμίστε την επιφάνεια του άγαρ με 0,1 ml καλά αναμεμιγμένου αραιωμένου δείγματος.
3. Επιστρώστε το δείγμα ομοιόμορφα πάνω στην επιφάνεια του άγαρ.
4. Επώστε τα τρυβλία αερόβια στους 35-37 °C. για 46 - 48 ώρες.
5. Οι θετικές αποικίες β-D-galactosidase & β-D-glucuronidase (σκούρο μπλε βιολετή χρώμα) υπολογίζονται ως *E. coli*.

6. Οι αποικίες β-D-galactosidase (ροζ προς κόκκινο χρώμα) υπολογίζονται ως *Enterobacteria*.
7. 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).
8. Το σύνολο των βακτηρίων *Enterobacteria* 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 κονακ'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 *Enterobacteria*.

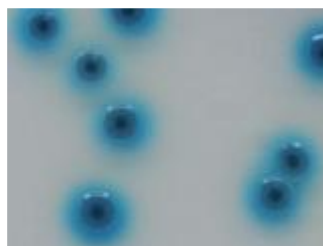
Τα Gram (+) θετικά βακτήρια δεν αναπτύσσονται.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Για να αποφευχθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα, που προκαλούνται από τα οξειδάση-θετικά βακτήρια, για παράδειγμα *Pseudomonas spp*, ελέγχουμε τις ελαφρώς 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 βιολετή χρώμα (*E. coli*). Ελέγξτε τις μπλε βιολετή αποικίες για παραγωγή ινδόλης με το αντιδραστήριο κονακ'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 με ή χωρίς μπλε Άλω
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC®8090	Ροζ προς κόκκινο
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC® 23355	Ροζ προς κόκκινο
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 13883	Ροζ προς κόκκινο
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 14153	Κόκκινο με ερπυσμό
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Αναστέλλεται
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Αναστέλλεται



Escherichia coli



Other *Enterobacteriaceae*

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 δυνητικός 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™ Enterobacteria

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 9cm	010768	10 τεμάχια	2 – 12 °C	3 μήνες
Τρυβλίο 6cm	050768	10 τεμάχια	2 – 12 °C	3 μήνες

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

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714010401WF. EDMA (14 01 04 01) non-chromogenic media (Plates).

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

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

2018. Laboratoire de Touraine. Validation of alternative method for the ISO 21528.

2018. ACTALIA/January 2018 report. Enumeration medium study for enterobacteria by enumeration of colonies in food products.

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.bioprepare.gr



TECHNICAL DATA SHEET

PRODUCT: **CHROMagar™ Enterobacteria**
REFERENCE: **010768 - 050768**



Date 1st Edition:
7th 2009
Date 4th Revision:
6th 2024

DESCRIPTION

CHROMagar™ Enterobacteria is a chromogenic medium for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae.

SUMMARY

Enterobacteriaceae and coliforms from this family represent two of the most common groups of indicator organisms used by the food industry. In certain countries, depending on regulatory requirements, the food industry has advanced in testing for Enterobacteriaceae. ILSI Europe (International Life Sciences Institute) has adopted the ISO 21528 standard, which defines a method for enumerating Enterobacteriaceae, applicable to products intended for human consumption, animal feed, and environmental samples, using VRBG as a culture medium. CHROMagar, in collaboration with Dr. Marco Agosti, has developed a medium that significantly reduces the laboratory workload compared to the labor-intensive traditional VRBG. CHROMagar™ Enterobacteria is a two-in-one medium that allows for the detection and differentiation of *E. coli* and other Enterobacteriaceae based on color.

METHOD PRINCIPLE

Peptones and yeast extract provide essential nutrients to the medium. Sodium chloride supplies electrolytes and regulates the osmotic balance of the material. Agar provides trace elements and electrolytes, as well as solidifies the medium. The breakdown of the chromogen β -D-glucuronide detects the production of the enzyme β -D-glucuronidase. Meanwhile, the breakdown of the chromogen β -D-galactoside detects the production of the enzyme β -D-galactosidase. *E. coli* produces both enzymes, and its colonies always appear dark blue-violet, a combination of blue and magenta dyes produced by the breakdown of the chromogens β -glucuronide and β -D-galactoside. Other coliforms, during their growth, produce only β -D-galactosidase enzymes, and their colonies appear pink due to the breakdown of the chromogen β -D-galactoside. The various colony types 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	22.0
Chromogenic and selective mix	0.7
Mineral salts	4.9
Growth factors	3.7
Selective mix	0.01
Chromogenic mix	1 ml
Agar	11.0

Appearance: Clear beige.

Final pH 7.4 ± 0.2 at 25 °C.

PRECAUTIONS

CHROMagar™ Enterobacteria 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** in their original packaging until use. Prolonged storage at temperatures below **2 °C** can cause moisture buildup in the material, increasing the risk of contamination. Freezing, even briefly, will destroy the material. Excessive heating should also be avoided. The plates can be used up until the expiration date indicated on the label. For transportation, our stability studies have shown that the plates can be kept at **6 - 25 °C for 4 days** or at **25 - 40 °C for 24 hours** without affecting the product's performance.

INSTRUCTIONS FOR USE

Allow the CHROMagar™ Enterobacteria plates to warm up to room temperature and ensure the surface is dry before inoculating. Plate

Spreading Method:

1. Prepare decimal dilutions in sterile diluent to achieve 30-300 CFU per plate.
2. Aseptically inoculate the surface of the agar with 0.1 ml of the well-mixed diluted sample.
3. Spread the sample evenly across the surface of the agar.
4. Incubate the plates aerobically at 35-37 °C for 46 - 48 hours.
5. Positive β -D-galactosidase & β -D-glucuronidase colonies (dark blue-violet color) are counted as *E. coli*.
6. β -D-galactosidase colonies (pink to red color) are counted as Enterobacteria.
7. To avoid false positive results caused by oxidase-positive bacteria, such as *Pseudomonas* spp, check slightly blue or colorless colonies (false positives) for oxidase production (oxidase test).

8. The total Enterobacteria count is the sum of oxidase-negative, β -D-galactosidase-positive colonies (pink to red) and all colonies showing a dark blue-violet color (*E. coli*). Check the blue-violet colonies for indole production with Kovac's reagent (confirming *E. coli*).

READING AND INTERPRETATION

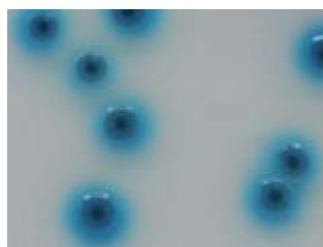
The positive β -D-galactosidase & β -D-glucuronidase colonies (dark blue-violet color) are counted as *E. coli*. The β -D-galactosidase colonies (pink to red color) are counted as Enterobacteria. Gram (+) positive bacteria do not grow.

LIMITATIONS OF THE METHOD

To avoid false positive results caused by oxidase-positive bacteria, such as *Pseudomonas spp.*, check the slightly blue or colorless colonies (false positives) for oxidase production (Oxidase Test Strips-MID-61G). The total count of Coliform bacteria is the sum of oxidase-negative, β -D-galactosidase-positive colonies (pink to red) and all colonies showing a dark blue-violet color (*E. coli*). Check the blue-violet colonies for indole production with Kovac's reagent (confirming *E. coli*). It is recommended to conduct 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 with or without a blue halo
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC®8090	Pink to red
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC® 23355	Pink to red
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 13883	Pink to red
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 14153	Red with swarming
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Inhibited
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Inhibited



Escherichia coli



Other Enterobacteriaceae

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™ Enterobacteria

ITEM	CODE	PACKAGE	STORAGE	SHELF LIFE
Petri dish 9cm	010768	10 pieces	2 – 12 °C	3 months
Petri dish 6cm	050768	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 / EL0T EN ISO 13485:2016, DY85/1348/2004.

REFERENCES

2018. Laboratoire de Touraine. Validation of alternative method for the ISO 21528.

2018. ACTALIA/January 2018 report. Enumeration medium study for enterobacteria by enumeration of colonies in food products.

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