

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ****ΠΡΟΪΟΝ: CHROMagar™ TBX****ΚΩΔΙΚΟΙ: 010377 - 050377**Ημ. 1<sup>ης</sup> Έκδοσης:

7ος 2009

Ημ. 5<sup>ης</sup> Αναθεώρησης:

4ος 2024

**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ**

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

**ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Αυτό χρωμογόνο μέσο έχει αναπτυχθεί για την ταυτόχρονη ανίχνευση και απαρίθμηση της *Escherichia coli* και των κολοβακτηριδίων (*coliforms*) στα τρόφιμα το νερό, και άλλα περιβαλλοντικά δείγματα. Το διαφορετικό χρώμα που παίρνουν οι αποικίες, μας δίνει τη δυνατότητα να διακρίνουμε, να διαχωρίσουμε και να υπολογίσουμε με ακρίβεια τον αριθμό των αποικιών της *E. coli* και των κολοβακτηριδίων από ένα δείγμα. Βασισμένο στη φόρμουλα κατά ISO 16649-2001 το μέσο έχει τροποποιηθεί με την προσθήκη του 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-D-glucuronide. Η *E. coli* παράγει β-glucuronidase και οι αποικίες της παίρνουν πάντα μπλε χρώμα. Τα υπόλοιπα κολοβακτηρίδια, κατά τον πολλαπλασιασμό τους παραμένουν άχρωμα. 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  |
|------------------------------------------|----------|
| Casein Peptone                           | 20.0     |
| Bile salts No.3                          | 1.5      |
| 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-D-glucuronide | 144 μmol |
| Agar                                     | 15.0     |

Εμφάνιση: Αχυρόχρωμο διαυγές

Τελικό pH 7.2 ± 0.2 στους 25 °C.

**ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ**

Το CHROMagar™ TBX 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 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 (άχρωμες) υπολογίζονται ως *Coliforms*.
  6. 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).
  7. Το σύνολο των βακτηρίων *Coliforms* είναι το άθροισμα των οξειδάση αρνητικών, β-D-galactosidase θετικών αποικιών (άχρωμες) 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*).

**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 (άχρωμες) υπολογίζονται ως *Coliforms*.

Τα Gram (+) θετικά βακτήρια δεν αναπτύσσονται.

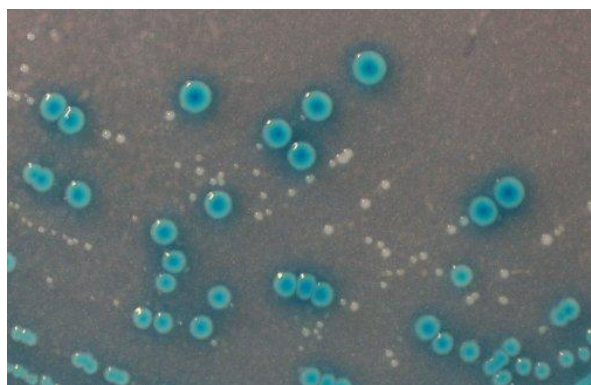
**ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

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 (άχρωμες) 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><br>ATCC® 25922      | Μπλε                     |
| <i>Citrobacter freundii</i><br>ATCC® 8090   | Άχρωμες                  |
| <i>Enterobacter cloacae</i><br>ATCC® 23355  | Άχρωμες                  |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i><br>ATCC® 13883 | Άχρωμες                  |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC® 25923 | Αναστέλλεται             |
| <i>Enterococcus faecalis</i><br>ATCC® 29212 | Αναστέλλεται             |



*Escherichia coli* ATCC 25922

#### 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™ TBX

| ΕΙΔΟΣ       | ΚΩΔΙΚΟΣ | ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ | ΦΥΛΑΞΗ    | ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ |
|-------------|---------|------------|-----------|-------------|
| Τρυβλίο 9cm | 010377  | 10 τεμάχια | 2 – 12 °C | 3 μήνες     |
| Τρυβλίο 6cm | 050377  | 10 τεμάχια | 2 – 12 °C | 3 μήνες     |

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

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ISO 16649-2001 norm part 1 and part 2

1991. Ogden et al. An evaluation of Fluorogenic and Chromogenic Assays for the Direct Enumeration of *E. coli* Letters in Applied Microbiology, 13:212-215.

#### 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](mailto:bioprep1@otenet.gr) [www.bioprepare.gr](http://www.bioprepare.gr)

**TECHNICAL DATA SHEET****PRODUCT: CHROMagar™ TBX****REFERENCE: 010377 - 050377**

Date 1st Edition:

7th 2009

Date 3rd Revision:

6<sup>th</sup> 2024**DESCRIPTION**

CHROMagar™ TBX is a chromogenic medium for the detection and enumeration of  $\beta$ -glucuronidase-positive *E. coli* and coliforms in food and water samples.

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

This chromogenic medium has been developed for the simultaneous detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliforms in food, water, and other environmental samples. The different colors of the colonies allow for clear distinction, separation, and accurate counting of *E. coli* and coliform colonies from a single sample. Based on the ISO 16649-2001 formulation, the medium has been modified by the addition of 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-D-glucuronide. *E. coli* produces  $\beta$ -glucuronidase, resulting in colonies that always appear blue. Other coliforms, during their growth, remain colorless. The different colony types are easily distinguishable, even in high numbers, making the simultaneous enumeration of *E. coli* and coliforms a fast and simple procedure.

| FORMULA                                  | g/litre       |
|------------------------------------------|---------------|
| Casein Peptone                           | 20.0          |
| Bile salts No.3                          | 1.5           |
| 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-D-glucuronide | 144 $\mu$ mol |
| Agar                                     | 15.0          |

Appearance: Straw-colored, clear

Final pH: 7.2  $\pm$  0.2 at 25 °C**PRECAUTIONS**

CHROMagar™ TBX 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 the time of use. Prolonged storage at temperatures below **2 °C** leads to moisture build-up inside the medium, increasing the risk of contamination. Freezing, even briefly, destroys the medium. Excessive heating should also be avoided. The plates may be used until the expiration date indicated on the label. Transport stability studies have shown that the plates can remain at **6 – 25 °C** for **4 days** or at **25 – 40 °C** for **24 hours** without affecting product performance.

**INSTRUCTIONS FOR USE**

Filter the sample through the special membrane. Place the membrane on the surface of CHROMagar™ ECC. Incubate the plate at 36  $\pm$  2 °C for 21  $\pm$  3 hours. Colonies that are  $\beta$ -D-galactosidase and  $\beta$ -D-glucuronidase positive (dark blue-violet color) are counted as *E. coli*. Colonies that are  $\beta$ -D-galactosidase positive (colorless) are counted as coliforms. To avoid false positive results caused by oxidase-positive bacteria, such as *Pseudomonas spp.*, lightly blue or colorless colonies (suspected false positives) should be tested for oxidase production using an oxidase test. The total number of coliform bacteria is the sum of oxidase-negative,  $\beta$ -D-galactosidase positive (colorless) colonies and all colonies with a dark blue-violet color (*E. coli*). Blue-violet colonies should be tested for indole production using Kovac's reagent to confirm the presence of *E. coli*.

**READING AND INTERPRETATION**

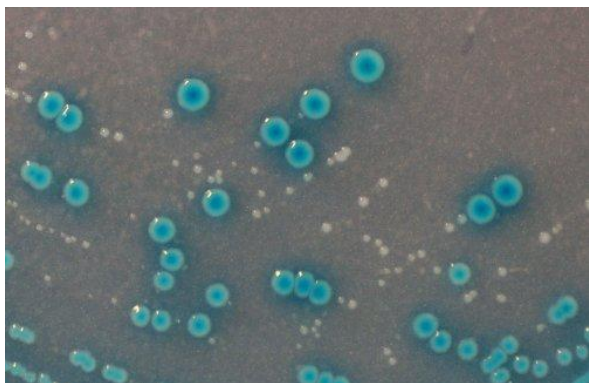
Colonies that are positive for  $\beta$ -D-galactosidase and  $\beta$ -D-glucuronidase (dark blue-violet color) are counted as *E. coli*. Colonies that are only  $\beta$ -D-galactosidase positive (colorless) are counted as coliforms. Gram-positive bacteria do not grow on this medium.

**LIMITATIONS OF THE METHOD**

To avoid false positive results caused by oxidase-positive bacteria such as *Pseudomonas spp.*, lightly blue or colorless colonies (suspected false positives) should be tested for oxidase production using oxidase test strips (MID-61G). The total number of coliform bacteria is the sum of oxidase-negative,  $\beta$ -D-galactosidase positive colonies (colorless) and all colonies with a dark blue-violet color (*E. coli*). Blue-violet colonies should be tested for indole production using Kovac's reagent to confirm *E. coli*. It is recommended to perform biochemical tests on colonies from pure cultures for full identification.

## GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

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



*Escherichia coli* ATCC 25922

## 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™ TBX

| ITEM       | CODE   | PACKAGE   | STORAGE   | SHELF LIFE |
|------------|--------|-----------|-----------|------------|
| 9 cm Plate | 010377 | 10 pieces | 2 – 12 °C | 3 months   |
| 6 cm Plate | 050377 | 10 pieces | 2 – 12 °C | 3 months   |

The company Bioprepare is certified according to the standards: EN ISO 9001:2015 / ELOT EN ISO 13485:2016 / ΔY86/1348/2004. REFERENCES.

## REFERENCES

ISO 16649-2001 norm part 1 and part 2

1991. Ogden et al. An evaluation of Fluorogenic and Chromogenic Assays for the Direct Enumeration of *E. coli* Letters in Applied Microbiology, 13:212-215.

## 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](mailto:bioprep1@otenet.gr)

[www.bioprepare.gr](http://www.bioprepare.gr)