

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**ΠΡΟΪΟΝ: **E.E. BROTH**ΚΩΔΙΚΟΣ: **260221 – 060221**Ημ. 1<sup>ης</sup> Έκδοσης:

5ος 1993

Ημ. 5<sup>ης</sup> Αναθεώρησης:

6ος 2024

**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ**

Το E.E. BROTH είναι ένα μέσο που συνιστάται από το πρότυπο ISO 21528 για την ανίχνευση και απαρίθμηση των *Enterobacteriaceae* με τη μέθοδο MPN.

**ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Η παγκρεατική πέψη της ζελατίνης παρέχει άζωτο βιταμίνες μέταλλα κα ιχνοστοιχεία. Η γλυκόζη είναι πηγή ενέργειας. Το Ox Bile και το Brilliant Green αναστέλλουν την ανάπτυξη των Gram (+) κόκκων.

Το φωσφορικό νάτριο και το φωσφορικό κάλιο λειτουργούν ως ρυθμιστικά άλατα του pH.

| ΣΥΝΘΕΣΗ                        | g/litre |
|--------------------------------|---------|
| Dehydrated Ox Bile             | 20.00   |
| Pancreatic Digest of Gelatin   | 10.00   |
| Disodium Hydrogen Phosphate    | 6.45    |
| Glucose Monohydrate            | 5.00    |
| Potassium Dihydrogen Phosphate | 2.00    |
| Brilliant Green                | 0.0135  |

Εμφάνιση: Πράσινο διαυγές.

Τελικό pH  $7.2 \pm 0.2$  στους 25 °C.

**ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ**

Το E.E. BROTH 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 υγιεινομική 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 σωληναρίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες. Μη χρησιμοποιείτε τα σωληνάρια εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης. 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**

Τα σωληνάρια πρέπει να φυλάσσονται στους **2 – 12 °C** μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης να αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση. Τα σωληνάρια είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα σωληνάρια μπορούν να παραμείνουν στους **6 - 25 °C** για **7 ημέρες** ή στους **25 - 40 °C** για **48 ώρες**, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

**ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ**Δοκιμή για την παρουσία-απουσία Gram (-) βακτηρίων ανθεκτικών στη χολή και το Brilliant Green:

1. Ρίξτε 1 gr ή 1ml από το δείγμα στο ζωμό E.E. και αναμειξτε καλά.
2. Επώαστε τον ζωμό στους 30-35 ° C για 24 έως 48 ώρες.
3. Μετά την επώαση εμβολιάστε 10ml από το ζωμό σε ένα τρυβλίο VIOLET RED BILE GLUCOSE AGAR (VRBGA) (010127)
4. Επώαστε το τρυβλίο στους 30-35 ° C για 18 έως 24 ώρες και εξετάστε για την παρουσία *Enterobacteriaceae* που εμφανίζονται ως ροζ έως κόκκινες αποικίες με ίζημα χολής.

Ποσοτικός έλεγχος για την παρουσία-απουσία Gram (-) βακτηρίων ανθεκτικών στη χολή και το Brilliant Green:

1. Εμβολιάστε 0,1 gr (ml), 0,01 gr (ml) και 0,001 gr (ml) του προϊόντος που πρόκειται να εξεταστεί όπως καθορίζεται από τη μέθοδο αναφοράς στον ζωμό EE και επώαστε στους 30-35 ° C για 24 έως 48 ώρες.
2. Μετά την επώαση εμβολιάστε 10ml από το ζωμό σε ένα τρυβλίο VIOLET RED BILE GLUCOSE AGAR (VRBGA) (010127).
3. Επώαστε τα τρυβλία στους 30-35 ° C για 18 έως 24 ώρες και εξετάστε για την παρουσία *Enterobacteriaceae* που εμφανίζονται ως ροζ σε κόκκινες αποικίες με ίζημα χολής.
4. Σημειώστε τη μικρότερη αραιώση που δίνει ένα θετικό αποτέλεσμα και τη μεγαλύτερη αραιώση που δίνει αρνητικό αποτέλεσμα.
5. Προσδιορίστε τον πιό πιθανό αριθμό (MPN) βακτηρίων ανά δείγμα όπως υπαγορεύεται από τη μέθοδο αναφοράς.

Δοκιμές τροφίμων:

1. Εμβολιάστε σε ένα φιαλίδιο E.E. BROTH 100ml (060221) με 10gr δείγματος και αναμειξτε καλά.
2. Επώαστε για 18 έως 48 ώρες στους 30-35 ° C. Ανακινήστε το ζωμό και ομογενοποιήστε απαλά για να επανα-εναιωρήσετε μετά τις πρώτες 3 ώρες επώασης.
3. Μετά την επώαση εμβολιάστε 10ml από το ζωμό σε ένα τρυβλίο VIOLET RED BILE GLUCOSE AGAR (VRBGA) (010127)
4. Επώαστε το τρυβλίο στους 30-35 ° C για 18 έως 24 ώρες και εξετάστε για την παρουσία *Enterobacteriaceae* που εμφανίζονται ως ροζ έως κόκκινες αποικίες με ίζημα χολής.

## ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Η παραγωγή οξέος από τη ζύμωση της γλυκόζης προκαλεί κίτρινο χρώμα στο ζωμό ΕΕ.  
Σε αρνητική αντίδραση δεν έχουμε καμία αλλαγή χρώματος και ο ζωμός παραμένει πράσινος.

## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Συνιστάται η διεξαγωγή βιοχημικών δοκιμών, στις μεμονωμένες αποικίες για πλήρη αναγνώριση.

## ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

| ΜΙΚΡΟΒΙΟ                                 | ΑΝΑΠΤΥΞΗ     | Κίτρινο υλικό και παραγωγή αερίου |
|------------------------------------------|--------------|-----------------------------------|
| <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048 | Καλή         | +                                 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922       | Καλή         | +                                 |
| <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076 | Καλή         | (±) Με καθυστέρηση                |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923  | 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

Ε.Ε. BROTH - **CE**

| ΕΙΔΟΣ           | ΚΩΔΙΚΟΣ | ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ | ΦΥΛΑΞΗ    | ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ |
|-----------------|---------|------------|-----------|-------------|
| Σωληνάριο 10ml  | 260221  | 40 τεμάχια | 2 – 12 °C | 12 μήνες    |
| Φιαλίδιο 100 ml | 060221  | 10 τεμάχια | 2 – 12 °C | 12 μήνες    |

Produced in Greece by the company Bioprepere in accordance with the requirements of the European Directive 2017/746.

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

The Bioprepere company has been certified according to the standards: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 DY8d/1348/2004

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ISO 21528-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal methods for the detection and enumeration of

Enterobacteriaceae -- Part 1: Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment

Department of Health NHS Executive: The Caldicott Committee. Report on the review of patient identifiable information. London.

December 1997.

The European Parliament and the Council of the European Union. Regulation (EC) No 852/2004 of the European Parliament and of the

Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs. Official Journal of the European Union. L226.

## 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.bioprepere.gr](http://www.bioprepere.gr)

**TECHNICAL DATA SHEET****PRODUCT: E.E. BROTH****REFERENCE: 260221 – 060221**Ημ. 1<sup>ης</sup> Έκδοσης:

7ος 2009

Ημ. 4<sup>ης</sup> Αναθεώρησης:

6ος 2024

**DESCRIPTION**

E.E. BROTH is a medium recommended by ISO 21528 for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae using the MPN method.

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

The pancreatic digestion of gelatin provides nitrogen, vitamins, minerals, and trace elements. Glucose serves as an energy source. Ox Bile and Brilliant Green inhibit the growth of Gram-positive cocci. Sodium phosphate and potassium phosphate act as pH buffering salts.

| FORMULA                        | g/litre |
|--------------------------------|---------|
| Dehydrated Ox Bile             | 20.00   |
| Pancreatic Digest of Gelatin   | 10.00   |
| Disodium Hydrogen Phosphate    | 6.45    |
| Glucose Monohydrate            | 5.00    |
| Potassium Dihydrogen Phosphate | 2.00    |
| Brilliant Green                | 0.0135  |

Appearance: Clear green.

Final pH 7.2 ± 0.2 at 25 °C.

**PRECAUTIONS**

E.E. BROTH 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 CONDITIONS**

The tubes should be stored at **2 – 12 °C** in their packaging until use. Even momentary freezing destroys the material. Excessive heating should also be avoided. The tubes can be used until the expiration date indicated on the label. Stability studies have shown that for transportation, the tubes can remain at **6 - 25 °C** for **7 days** or at **25 - 40 °C** for **48 hours** without affecting product performance.

**USAGE**

Test for the presence or absence of Gram (-) bile-resistant bacteria and Brilliant Green:

1. Add 1 g or 1 ml of the sample to the E.E. broth and mix well.
2. Incubate the broth at 30-35 °C for 24 to 48 hours.
3. After incubation, inoculate 10μl of the broth in a VIOLET RED BILE GLUCOSE AGAR (VRBGA) (010127)
4. Incubate the plate at 30-35 °C for 18 to 24 hours and examine for the presence of Enterobacteriaceae that appear as pink to red colonies with bile precipitate.

Quantitative test for the presence or absence of Gram (-) bacteria resistant to bile and Brilliant Green:

1. Inoculate 0.1 g (ml), 0.01 g (ml) and 0.001 g (ml) of the product to be tested as determined by the reference method in the EE broth and incubate at 30-35 °C for 24 to 48 hours.
2. After incubation, inject 10μl of the broth into a VIOLET RED BILE GLUCOSE AGAR (VRBGA) plate (010127).
3. Incubate the plates at 30-35 °C for 18 to 24 hours and examine for the presence of Enterobacteriaceae that appear pink in red colonies with bile precipitate.
4. Note the smallest dilution giving a positive result and the highest dilution giving a negative result.
5. Determine the most likely number (MFN) of bacteria per sample as dictated by the reference method.

Food Testing:

1. Inoculate in one vial of E.E. BROTH 100ml (060221) with 10g of sample and mix thoroughly.
2. Incubate for 18 to 48 hours at 30-35 °C. Shake the broth and homogenize gently to resuspend after the first 3 hours of incubation.
3. After incubation, inoculate 10μl of the broth in a VIOLET RED BILE GLUCOSE AGAR (VRBGA) (010127)
4. Incubate the plate at 30-35 °C for 18 to 24 hours and examine for the presence of Enterobacteriaceae that appear as pink to red colonies with bile precipitate.

**INTERPRETATION OF RESULTS**

The production of acid from glucose fermentation causes the EE broth to turn yellow.

In a negative reaction, no color change occurs, and the broth remains green.

## LIMITATIONS OF THE METHOD

It is recommended to perform biochemical tests on individual colonies for complete identification.

## GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

| Microorganism                            | Growth    | Yellow material and gas production |
|------------------------------------------|-----------|------------------------------------|
| <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048 | Good      | +                                  |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922       | Good      | +                                  |
| <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076 | Good      | (±) With delay                     |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923  | 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

### E.E. BROTH - CE

| PRODUCT            | CODE   | PACKING   | STORE     | SELF LIFE |
|--------------------|--------|-----------|-----------|-----------|
| Tube 10ml - Durham | 260221 | 40 pieces | 2 – 12 °C | 2 months  |
| Bottle 100ml       | 060221 | 10 pieces | 2 – 12 °C | 2 months  |

Produced in Greece by Bioprepure in accordance with the requirements of the European Directive 98/79/EK. FEK B2198/2-10-2009. CODE EDMA 14 01 02 01. Bioprepure company has been certified according to standards EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ8δ/1348/2004.

## BIBLIOGRAPHY

ISO 21528-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal methods for the detection and enumeration of

Enterobacteriaceae -- Part 1: Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment

Department of Health NHS Executive: The Caldicott Committee. Report on the review of patient identifiable information. London.

December 1997.

The European Parliament and the Council of the European Union. Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the

Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs. Official Journal of the European Union. L226.

## 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.bioprepure.gr](http://www.bioprepure.gr)