

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το CCA έχει αναπτυχθεί για την ταυτόχρονη ανίχνευση και απαρίθμηση της *Escherichia coli* και των Κολοβακτηριδίων (*Coliforms*) στο νερό.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

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 *Coliforms* από ένα δείγμα.

Το μέσο είναι βασισμένο στη φόρμουλα κατά ISO 9308-1: 2014.

Η αλληλεπίδραση των πεπτονών και της σορβιτόλης επιτρέπει τη γρήγορη ανάπτυξη της αποικίας των *Coliforms* και *E. Coli*.

Η tergitol αναστέλλει τα gram (+) βακτήρια. Το χλωριούχο νάτριο διατηρεί την οσμωτική ισορροπία και τα φωσφορικά άλατα διατηρούν σταθερό το pH του υλικού.

Η τρυπτοφάνη χρησιμοποιείται για τον έλεγχο παραγωγής ινδόλης με την προσθήκη konak's.

Με τη διάσπαση του χρωμογόνου X-β-G-glucuronide ανιχνεύουμε την παραγωγή του ενζύμου β-D-glucuronidase.

Ενώ με τη διάσπαση του χρωμογόνου Salmon- 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 X-β-G-glucuronide και Salmon-β-D-galactoside.

Τα υπόλοιπα *κολοβακτηρίδια*, κατά τον πολλαπλασιασμό τους παράγουν μόνο β-galactosidase ένζυμα και οι αποικίες τους παίρνουν ροζ χρώμα από τη διάσπαση του χρωμογόνου Salmon- β-D-galactosid.

Οι διάφοροι τύποι αποικιών είναι εύκολα διακριτοί, ακόμα και σε μεγάλο αριθμό, κάνοντας την ταυτόχρονη απαρίθμηση της *E. coli* και των *κολοβακτηρίδιων* μια γρήγορη και απλή διαδικασία.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Enzymatic digest of casein	1,0
Yeast extract	2,0
Sodium chloride	5,0
Sodium dihydrogen phosphate x 2H2O	2,2
Di-sodium hydrogen phosphate	2,7
Sodium pyruvate	1,0
Sorbitol	1,0
Tryptophane	1,0
Tergitol® 15-S-7 surfactant)	0,15
Salmon-β-D-galactoside	0,2
X-β-G-glucuronide	0,1
Isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside (IPTG)	0,1
Bacteriological agar	14.9

Εμφάνιση: Αχυρόχρωμο διαυγές

Τελικό pH 6,8 ± 0.2 στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το CCA 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 υγιεινονομική 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

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους 2 – 8 °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 αποφεύγετε 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 σωληνάρια μπορούν να παραμείνουν στους 6 - 25 °C για 4 ημέρες ή στους 25 - 40 °C για 48 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για 5 – 7 μέρες αφού το σφραγίσετε με παραφίλμ ή με σακουλάκι.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

1. Διηθείστε το δείγμα μέσω της ειδικής μεμβράνης.
2. Τοποθετήστε τη μεμβράνη στην επιφάνεια του CCA.
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 βιολετί χρώμα (*E. coli*).

Ελέγξτε τις μπλε βιολετί αποικίες για παραγωγή ινδόλης με το αντιδραστήριο konak's (επιβεβαίωση *E. coli*).

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

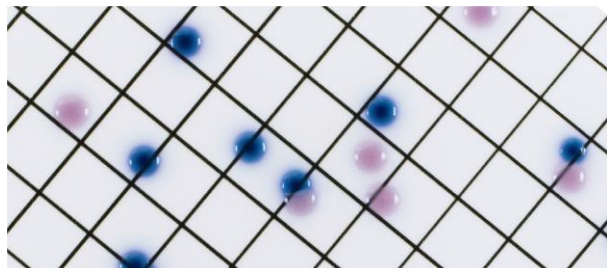
Συνιστάται η διεξαγωγή βιοχημικών δοκιμών, σε αποικίες από καθαρή καλλιέργεια για πλήρη αναγνώριση.

Ορισμένα στελέχη *Shigella* παράγουν το ένζυμο β-D-glucuronidase και μπορεί να παρουσιάσουν γαλάζιες αποικίες.

Η *E. coli* O157: H7 παράγει άχρωμες αποικίες (β-glucuronidase αρνητικές).

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Βακτήριο	ATCC	Ανάπτυξη Αποικίας (mm)	Χρώμα
<i>Escherichia coli</i>	25922	Καλή 0,1 – 2,0mm	Σκούρο μπλε βιολετί
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13883	Καλή 2,0 – 4,0mm	Ροζ - κόκκινες
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	Καλή 1,5 – 2,5mm	Ροζ - κόκκινες
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	Καλή 0,5 – 1,0mm	Άχρωμες
<i>E. faecalis</i>	29212	Αναστέλλεται	



Escherichia coli (αποικίες μπλε), *Enterobacter* (αποικίες ροζ)

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 δυνητικά 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

E.COLI COLIFORMS CHROMOGENIC MEDIUM (CCA) ISO 9308-1

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 90mm	010572	10 τεμάχια	2 – 8 °C	3 μήνες
Τρυβλίο 60mm	050572	10 τεμάχια	2 – 8 °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 ΔΥ8δ/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ISO 9308-1/2014 Water quality — Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria — Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora.

ISO 7218:2007, Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations Byamukama D., Kansime F., Mach R.L., Farnleitner A.H. Determination of *Escherichia coli*. (2) Contamination with Chromocult Coliform Agar Showed a High Level of Discrimination Efficiency for Differing Fecal Pollution Levels in Tropical Waters of Kampala, Uganda. Appl. Environ. Microbiol. 2000, 66 pp. 864–868 [3] Geissler K., Manafi M., Amoros I., Alonso J.L. Quantitative determination of total coliforms and *Escherichia coli* in marine waters with chromogenic and fluorogenic media. J. Appl. Microbiol. 2000, 88 pp. 280–285 [4] Ossmer R., Schmidt W., Mende U. Chromocult Coliform Agar — Influence of Membrane Filter Quality on Performance. Poster presentation, 1999. Congreso de la Sociedad Española de Microbiología, Granada, Spain (<http://www.univie.ac.at/chromogenic/OSSMER.PDF>) [5] USEPA: 40 CFR Part 141 (sec. 141.21) Federal Register/Vol. 67, No. 209, Tuesday October 29, 2002/Rules and Regulations [6] Lange B., Strathmann M., Ossmer R. Performance validation of chromogenic coliform agar for the enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. Lett. Appl. Microbiol. 2003, 37 pp. 547–553 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/lam.12147/supinfo>) [7] http://www.wfcc.info/pdf/WDCM_Reference_Strain_Catalogue.pdf (viewed 03-01-2014)

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