Instructions For Use
ENGLISH

EE Broth-Mossel

Liquid medium for the cultivation and selective enrichment of
Enterobacteriaceae from different types of samples, according to USP/EP/JP.

DESCRIPTION

Enterobacteriaceae Enrichment Broth-Mossel is a selective medium used for the detection of bile-tolerant Gram-negative bacteria in food and other materials of sanitary importance.

This medium complies with the recommendations of the harmonized method in the United States Pharmacopoeia (USP), European Pharmacopoeia (EP) and Japanese Pharmacopoeia (JP) for the microbiological examination of nonsterile products.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Pancreatic Digest of Gelatin	10.0
Glucose Monohydrate	5.0
Dehydrated Ox Bile	20.0
Potassium Dihydrogen Phosphate	2.0
Disodium Hydrogen Phosphate, Anhydrous	6.4*
Brilliant Green	0.015

Final pH 7.2 ± 0.2 at 25°C

* Equivalent to 8.0 g of Disodium Hydrogen Phosphate Dihydrate.

METHOD PRINCIPLE

Pancreatic digest of gelatin provides amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Glucose is the fermentable carbohydrate. Ox bile and brilliant green are selective agents effective against Gram-positive cocci. Potassium phosphate and sodium phosphate act as buffer.

PREPARATION

Dehydrated medium — Suspend 43.4 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. DO NOT AUTOCLAVE.

TEST PROCEDURE

As in the Pharmacopoeia, prepare the sample using a 1 in 10 dilution of not less than 1 g of the product to be examined by choosing Tryptic Soy Broth (ref. 24513 or 452080) as diluent and incubate at 20-25°C for 2-5 hour to resuscitate bacteria.

For qualitative test (test for absence), transfer the volume of the pre-enrichment broth corresponding to 1 g of the product to be examined to EE Broth-Mossel.

For quantitative test, enumerate Enterobacteriaceae found per milliliter or per gram of test sample by using the Most Probable Number (MPN) technique. Use the volume of the pre-enrichment broth containing 0.1 g, 0.01 g and 0.001 g (or 0.1 ml, 0.01 ml and 0.001 ml) of the product to be examined to inoculate EE Broth-Mossel.

For both types of test incubate EE Broth-Mossel at 30-35°C for 24-48 h and continue analysis by subculturing on Violet Red Bile Glucose Agar (ref. 11184). Incubate plates aerobically at 30-35°C for 18-24 hours.

INTERPRETING RESULTS

Turbidity of EE Broth-Mossel indicates microbial growth; acid production causes a color change of the medium to yellow.

No growth of colonies on Violet Red Bile Glucose Agar is reported as absence of bile-tolerant Gram-negative bacteria. Growth of colonies constitutes a positive result and the probable number of bacteria is determined from the table below.

MPN Table.

Results for each quantity of product			Probable number of bacteria
0.1 g or 0.1 ml	0.01 g or 0.01 ml	0.001 g or 0.001 ml	per gram or per milliliter of product
+	+	+	$>10^3$
+	+	–	10^3 - 10^2
+	–	–	10^2 - 10
–	–	–	<10

APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, light beige to light green.
Prepared medium: clear, green.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and prepared plates at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.
Medium in tubes/bottles: 1 year.

QUALITY CONTROL

The medium is inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.
Inoculum for productivity: ≤100 CFU.
Inoculum for selectivity: >100 CFU.
Incubation conditions: 18-24 h at 30-35°C (Pharmacopoeia growth promotion).

QC Table.

Microorganism		Specification
Escherichia coli	ATCC® 8739	Good growth
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® 9027	Good growth
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538	Inhibition

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use.
The product is intended for professional use only and must be used by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

1. EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. European Pharmacopoeia 6.5 (2009) 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
3. United States Pharmacopoeia 32 NF 27 (2009) <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
4. Japanese Pharmacopoeia 4.05 (2008) Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
5. ISO 21528-1:2004. Microbiology of food and animal feeing stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae – Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment.
6. ISO 21528-2:2004. Microbiology of food and animal feeing stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae – Colony count method.
7. Davidson, Roth, and Gambrel-Lenarz (2004) In Wehr and Frank (ed.) Standard methods for the microbiological examination of dairy products, 17th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
8. Kornacki and Johnson (2001) In Downes and Ito (ed.) Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington D.C.
9. Mossel, Vissar, and Cornellisen (1963) J. Appl. Bacteriol. 26:444.

PRESENTATION		Contents	Ref.
EE Broth-Mossel	Tubes	20 x 10 ml tubes	24096
EE Broth-Mossel	Bottles (screw cap)	6 x 100 ml bottles	402480
EE Broth-Mossel	Bottles (flip-off cap)	25 x 100 ml bottles	453080
EE Broth-Mossel	Bottles (perforable cap)	6 x 100 ml bottles	495000
EE Broth-Mossel	Dehydrated medium	500 g of powder	610017
EE Broth-Mossel	Dehydrated medium	100 g of powder	620017

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	Keep away from sunlight	Manufacturer	Use by	Fragile, handle with care
REF Catalogue number	Temperature limitation	Contains sufficient for <n> tests	Caution, consult Instruction For Use	Do not reuse

LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net

Istruzioni per l'uso
ITALIANO

EE Broth-Mossel

Terreno liquido per la coltivazione e l'arricchimento selettivo delle Enterobacteriaceae da differenti tipologie di campioni, secondo USP/EP/JP.

DESCRIZIONE

Enterobacteriaceae Enrichment Broth-Mossel è un terreno selettivo utilizzato per la ricerca dei batteri Gram negativi bile tolleranti negli alimenti, acqua ed altri materiali di importanza.

Questo terreno è conforme alle raccomandazioni del metodo armonizzato delle Farmacopee Statunitense (USP) Europea (EP) e Giapponese (JP) per l'esame microbiologico dei prodotti non sterili.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Digerito Pancreatico di Gelatina	10.0
Glucosio Monoidrato	5.0
Bile di Bue Disidratata	20.0
Potassio Diidrogeno Fosfato	2.0
Sodio Idrogeno Fosfato Bibasico, Anidro	6.4*
Verde Brillante	0.015

pH Finale 7.2 ± 0.2 a 25°C

* Equivalente a 8.0 g di Sodio Idrogeno Fosfato Bibasico Biidrato

PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito pancreatico di gelatina fornisce aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. Il glucosio è il carboidrato fermentabile. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. Bile di bue e verde brillante sono agenti selettivi efficaci contro i cocchi Gram positivi. Potassio fosfato e sodio fosfato agiscono da tampone.

PREPARAZIONE

Terreno disidratato: Sospendere 43.4 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. NON AUTOCLAVARE.

PROCEDURA DEL TEST

Come da Farmacopea, preparare il campione utilizzando una diluizione 1 a 10 con almeno 1 g del prodotto da esaminare scegliendo come diluente Tryptic Soy Broth (ref. 24513 o 452080) ed incubare a 20-25°C per 2-5 ore per recuperare i batteri.

Per test qualitativi (test per assenza), trasferire in EE Broth-Mossel il volume del brodo di pre-arricchimento corrispondente ad 1 g del prodotto da esaminare.

Per test quantitativi, contare le Enterobacteriaceae trovate per millilitro o per grammo di campione utilizzando la tecnica MPN (Most Probable Number).

Per entrambe le tipologie di test, incubare EE Broth-Mossel a 30-35°C per 24-48 ore e procedere con l'analisi seminando parte del brodo su Violet Red Bile Glucose Agar (ref. 11184). Incubare le piastre in atmosfera aerobica a 30-35°C per 18-24 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La torbidità in EE Broth-Mossel indica la crescita microbica; la produzione di acidi provoca il cambiamento di colore del terreno a giallo.

Il mancato sviluppo di colonie su Violet Red Bile Glucose Agar è riportata come assenza di batteri Gram begativi bile tolleranti. La crescita di colonie costituisce un risultato positivo ed il numero probabile di batteri viene determinato consultando la tabella sottostante.

Tabella MPN.

Risultati in base alle quantità di prodotto			Numero probabile di batteri per grammo o per millilitro di prodotto
0.1 g o 0.1 ml	0.01 g o 0.01 ml	0.001 g o 0.001 ml	
+	+	+	$>10^3$
+	+	–	10^3 - 10^2
+	–	–	10^2 - 10
–	–	–	<10

ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, da beige a verde chiaro.
Terreno preparato: verde, limpido.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi e le provette a 10-25°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.
Terreno in provette/flaconi: 1 anno.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il terreno viene inoculato con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.
Inoculo per produttività: ≤100 UFC.
Inoculo per selettività: >100 UFC.
Condizioni di incubazione: 18-24 ore a 30-35°C (Pharmacopoeia growth promotion);

Tabella CQ.

Microrganismo		Specifiche
Escherichia coli	ATCC® 8739	Crescita buona
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® 9027	Crescita buona
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538	Inibizione

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso in ambito professionale e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

1. EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. European Pharmacopoeia 6.5 (2009) 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
3. United States Pharmacopoeia 32 NF 27 (2009) <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
4. Japanese Pharmacopoeia 4.05 (2008) Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
5. ISO 21528-1:2004. Microbiology of food and animal feeing stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae – Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment.
6. ISO 21528-2:2004. Microbiology of food and animal feeing stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae – Colony count method.
7. Davidson, Roth, and Gambrel-Lenarz (2004) In Wehr and Frank (ed.) Standard methods for the microbiological examination of dairy products, 17th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
8. Kornacki and Johnson (2001) In Downes and Ito (ed.) Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington D.C.
9. Mossel, Vissar, and Cornellisen (1963) J. Appl. Bacteriol. 26:444.

PRESENTAZIONE		Contenuto	Ref.
EE Broth-Mossel	Provette	Provette 20 x 10 ml	24096
EE Broth-Mossel	Flaconi (tappo a vite)	Flaconi 6 x100 ml	402480
EE Broth-Mossel	Flaconi (tappo flip-off)	Flaconi 25 x100 ml	453080
EE Broth-Mossel	Flaconi (tappo perforabile)	Flaconi 6 x 100 ml	495000
EE Broth-Mossel	Terreno disidratato	500 g di polvere	610017
EE Broth-Mossel	Terreno disidratato	100 g di polvere	620017

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	Tenere al riparo dalla luce	Fabbricante	Utilizzare entro	Fragile, maneggiare con cura
REF Numero di catalogo	Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	Non riutilizzare

LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net