Hygicult® E/ß-GUR

Instructions for use ● English

39585-12

Intended use
Hygicult E/ß-GUR slides are intended for presumptive detection of bacteria belonging to the family *Enterobacteriaceae* and for identification of species producing ß-glucuronidase enzyme.
The slide is covered on one side with modified VRB Agar (Violet Red Bile Agar with addition of glucose) which allows bacteria belonging to *Enterobacteriaceae* to grow as red colonies. The glucose also allows some other species to grow as red colonies.
The other side of the slide is covered with colourless ß-Gur Agar. Species producing ß-glucuronidase are able to grow on this side as brown colonies.
The test can be performed on-site for monitoring different types of materials, both solid and liquid. As required, the slides can be used as convenient transport media for samples.
Note: The limit values for microbial count in normal drinking water are too low to be detected by the Hygicult method.

Contents of the kit

Hygicult E/ß-GUR	Cat. No. 68267
Test slides	10 pcs
Labels	10 pcs
Instructions for use	1 pc

Typical formulation

Modified VRB Agar	ß-GUR Agar
Peptone	Sodium lauryl sulphate
Yeast extract	8-hydroxyquinoline glucuronide
Sodium chloride	Yeast extract
Lactose	Vitamins
Glucose D	Cysteine hydrochloride
Bile salts	Magnesium sulphate
Neutral red	Bile salts
Crystal violet	Manganese (II) chloride
Agar agar	Iron (III) citrate
Water	Agar agar
	Water

Warnings and precautions
Do not use product beyond the expiry date marked on the kit.
Do not use the kit if you notice
- discoloration or dehydration of the growth medium
- detachment of the growth media from the plastic slide
- evidence of bacterial or fungal growth

Do not touch the growth because any colony growing on the slide may be pathogenic.

Storage
Store the kit at room temperature (approx. 20ºC) protected from draught, temperature fluctuations and light sources. Avoid storage near heat-generating appliances. Do not allow to freeze. The expiry date (year-month-date) is marked on the box and on the cap of each slide.

Sampling
To avoid contamination, the growth medium should not come into contact with any other material than the one to be tested. On the other hand, it is important that the growth medium makes full contact with the material to be tested. After sampling screw the slide tightly back into the tube.

Contact inoculation (Fig. 1a, 1b)
Solid surfaces can be tested by pressing each side of the slide firmly against the surface for three or four seconds. The slide should be held still during pressing. The hinged design offers ease of use.

Dipping (Fig. 2)
Fluid samples are tested by dipping the slide in the liquid for three or four seconds. Blot the last drops on absorbent paper.

Swabbing (Fig. 3)
Semisolid materials or objects that are difficult to reach can be tested by carefully rolling a sterile swab over an area delimited using e.g. a frame. If the object is dry, the swab should first be moistened with sterile water. The moistened swab can also be used for obtaining samples from powders (e.g. spices) or viscous fluids.
After swabbing the sample area, roll the swab gently over the agar surfaces of the slide from left to right and from bottom to top.

Incubation (Fig. 4)
Incubate the slide tightly enclosed in its tube at 35…37ºC for 24–48 hours.

Interpretation of results (Fig. 5)
Remove the slide from its tube after incubation and determine the microbial count (number of colony forming units, CFU) and examine the colour reactions by comparing with the model chart.
Bacteria belonging to *Enterobacteriaceae* grow on the modified VRB Agar as red colonies. The glucose also allows some other gram-negative bacteria, e.g. *Pseudomonas* species, to grow as red colonies.
ß-glucuronidase-positive organisms grow on β-GUR agar as colonies in various shades of brown. As the colouration may be weak for some strains at high densities (10^{6-7} CFU/ml), any shade of brown is indicative of ß-glucuronidase-positive growth. ß-glucuronidase activity is found in ca. 90 % of strains of *Escherichia coli*. Some species of *Salmonella*, *Edwardsiella*, *Shigella* and *Yersinia* are also ß-glucuronidase producers. Gram-negative strains without ß-glucuronidase activity grow as colourless colonies on this agar.
The growth of gram-positive organisms is inhibited on both media.
The following levels can be considered as a rough basis for evaluating the degree of contamination:

	Contact inoculation
Clean	0 CFU/side
Contaminated	1–10 CFU/side
Very contaminated	> 10 CFU/side

The presence of *Enterobacteriaceae* in cooked food always indicates mishandling of the product or inadequate hygiene.

Limitations of the method
When used as a contact slide, Hygicult E/ß-GUR equals the contact plate method in sensitivity, whereas the dip and swab procedures have a detection limit of 1000 CFU/ml. The allowed total microbial concentration of normal drinking water is too low to be reliably detected using Hygicult E/ß-GUR.
Results obtained with different inoculation systems should not be compared. Valid comparisons can only be made among results obtained using the same technique on the same type of material.

Disposal
Any growth on slides may be pathogenic. Used slides must therefore be disposed of by burning, autoclaving or immersion in a disinfectant overnight, always following local laws and regulations.

Hygicult® E/ß-GUR

Gebrauchsanleitung ● Deutsch

Verwendungszweck
Hygicult E/ß-GUR -Keimindikatoren sind dafür bestimmt, eine mutmaßliche Kontaminierung mit Bakterien nachzuweisen, die zur Familie der *Enterobacteriaceae* gehören, und Spezies zu identifizieren, die das ß-Glucuronidase-Enzym produzieren.
Der Keimindikator ist auf einer Seite mit modifiziertem VRB -Agar (Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Agar mit zusätzlicher Glucose) beschichtet, der das Wachstum von Bakterien, die zu den *Enterobacteriaceae* gehören, als rote Kolonien erlaubt. Die Glucose erlaubt auch einigen anderen Spezies als rote Kolonien zu wachsen.
Die andere Seite des Keimindikator ist mit farblosem ß-Gur-Agar beschichtet. Spezies, die ß-Glucuronidase produzieren, können auf dieser Seite als braune Kolonien wachsen.
Der Test kann vor Ort zum Monitoring verschiedener Arten von Materialien, sowohl festen als auch flüssigen, durchgeführt werden. Die Keimindikatoren können je nach Bedarf als praktische Transportmedien für Proben verwendet werden.
Anmerkung: Die Grenzwerte für die Keimzahlbestimmung in normalem Trinkwasser sind für einen Nachweis mit der Hygicult-Methode zu niedrig.

Packungsinhalt

Hygicult E/ß-GUR	Kat. Nr. 68267
Testobjektträger	10 St.
Etiketten	10 St.
Gebrauchsanleitung	1 St.

Typische Zusammensetzung

Modifizierte VRB-Agar	ß-GUR Agar
Pepton	Natriumlaurylsulfat
Hefeextrakt	8-Hydroxychinolinglucuronid
Natriumchlorid	Hefeextrakt
Laktose	Vitamine
Glucose D	Cysteinhydrochlorid
Gallensalze	Magnesiumsulfat
Neutralrot	Gallensalze
Kristallviolett	Mangan (II)-chlorid
Agar-Agar	Eisen (III)-citrat
Wasser	Agar-Agar
	Wasser

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen
Das Produkt nicht nach dem auf dem Kit angegebenen Verfallsdatum verwenden.
Den Kit nicht verwenden, falls Sie folgendes feststellen:
- Verfärbung oder Austrocknung des Wachstumsmediums
- Ablösung des Wachstumsmediums vom Plastikträger
- Anzeichen von Bakterien- oder Pilzwachstum

Die wachsenden Kolonien nicht berühren, da jede auf dem Keimindikator wachsende Kolonie pathogen sein kann.

Lagerung
Den Kit bei Raumtemperatur (etwa 20°C), geschützt vor Zugluft, Temperaturschwankungen und Lichtquellen lagern. Lagerung in der Nähe von hitzeerzeugenden Vorrichtungen vermeiden. Frostfreie Lagerung. Das Verfallsdatum (Jahr-Monat-Tag) steht auf der Schachtel und auf der Verschlusskappe jedes Keimindikators.

Probennahme
Um Kontaminierung zu vermeiden, sollte das Wachstumsmedium nicht mit irgendeinem anderen Material außer dem zu testenden in Kontakt kommen. Anderseits ist es wichtig, dass das Wachstumsmedium mit dem zu testenden Material vollkommen in Kontakt gebracht wird. Nach der Probennahme den Keimindikator fest in das Röhrchen schrauben.

Kontaktinokulation (Abb. 1a, 1b)
Feste Oberflächen können getestet werden, indem jede Seite des Keimindikators drei oder vier Sekunden fest auf die Oberfläche gedrückt wird. Der Keimindikator sollte während des Andrückens ruhig gehalten werden. Die flexible Halterung ermöglicht eine einfache Handhabung.

Eintauchen (Abb. 2)
Flüssige Proben werden getestet, indem der Keimindikator drei oder vier Sekunden in die Flüssigkeit getaucht wird. Die letzten Tropfen auf absorbierendem Papier abstreifen.

Abstrich (Abb. 3)
Halbfeste Materialien oder Objekte, die schwer zugänglich sind, können getestet werden, indem ein steriler Tupfer vorsichtig über einen z.B. mit einem Rahmen begrenzten Bereich abgestrichen wird. Falls das Objekt trocken ist, sollte der Tupfer zuerst mit sterilem Wasser angefeuchtet werden. Der angefeuchtete Tupfer kann auch verwendet werden, um Proben aus Pulvern (z.B. Gewürzen) oder viskosen Flüssigkeiten zu erhalten.
Nach dem Abstreichen des Probenbereiches, den Tupfer behutsam über die Agaroberflächen des Keimindikators von links nach rechts und von unten nach oben abrollen.

Inkubation (Abb. 4)
Den Keimindikator fest verschlossen in seinem Röhrchen 24–48 Stunden bei 35…37ºC inkubieren.

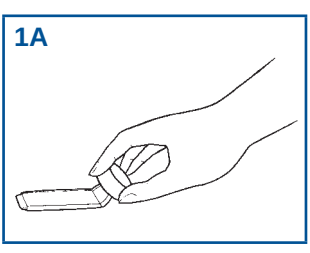
Interpretation der Ergebnisse (Abb. 5)
Den Keimindikator nach der Inkubation aus seinem Röhrchen nehmen, die Keimzahl (Anzahl der koloniebildenden Einheiten, KBE) bestimmen, und die Farbreaktionen durch Vergleich mit dem Auswertungstableau begutachten.
Bakterien, die zu den *Enterobacteriaceae* gehören, wachsen auf dem modifizierten VRB-Agar als rote Kolonien. Die Glucose erlaubt auch einigen anderen gram-negativen Bakterien, z.B. *Pseudomonas*-Spezies als rote Kolonien zu wachsen.
ß-Glucuronidase-positive Organismen wachsen auf dem β-GUR Agar als Kolonien in verschiedenen Braunschattierungen. Da die Färbung bei einigen Stämmen mit einer hohen Wachstumsdichte (10^{6-7} KBE/ml) schwach sein kann, zeigt jegliche Braunschattierung ein ß-Glucuronidase-positives Wachstum an. Man findet ß-Glucuronidase-Aktivität in ca. 90 % der *Escherichia coli* -Stämme. Einige *Salmonella*-, *Edwardsiella*-, *Shigella*- und *Yersinia*-Spezies sind ebenfalls ß-Glucuronidase-Produzenten. Gram-negative Stämme ohne ß-Glucuronidase-Aktivität wachsen auf diesem Agar als farblose Kolonien.
Das Wachstum von gram-positiven Organismen wird auf beiden Medien gehemmt.
Die folgenden Grenzwerte können als grobe Basis für die Bewertung des Kontaminierungsgrades betrachtet werden:

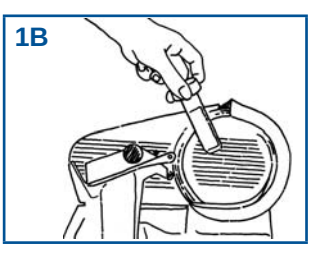
	Kontaktinokulation
Rein	0 KBE/Seite
Kontaminiert	1–10 KBE/Seite
Sehr kontaminiert	> 10 KBE/Seite

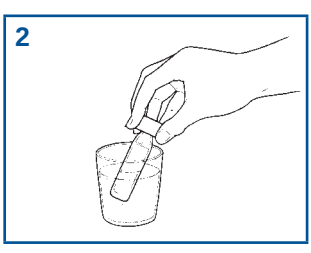
Das Vorhandensein von *Enterobacteriaceae* in gekochten Lebensmitteln zeigt immer eine falsche Handhabung des Produkts oder mangelnde Hygiene an.

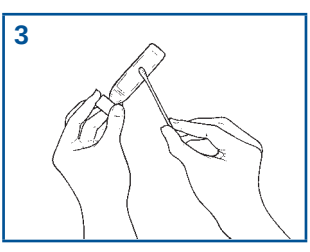
Einschränkungen der Methode
Bei Verwendung als Kontaktobjektträger ist Hygicult E dem Kontaktplattenverfahren bezüglich der Sensitivität gleichwertig, während die Eintauch- und Abstrichverfahren eine Nachweisgrenze von 1000 KBE/ml aufweisen. Die zulässige Gesamtkeimzahl von normalem Trinkwasser ist für einen zuverlässigen Nachweis mit der Hygicult-Methode zu niedrig.
Mit unterschiedlichen Inokulationssystemen erhaltene Ergebnisse sollten nicht verglichen werden. Gültige Vergleiche können nur mit Ergebnissen angestellt werden, wenn dasselbe Verfahren auf demselben Materialtyp verwendet wird.

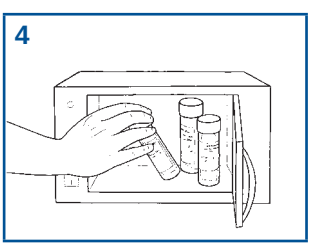
Entsorgung
Jede auf den Keimindikatoren wachsende Kolonie kann pathogen sein. Gebrauchte Objektträger müssen deshalb entsorgt werden durch Verbrennen, Autoklavieren oder Einlegen in ein Desinfektionsmittel über Nacht, wobei immer die örtlichen Gesetze und Verordnungen zu befolgen sind.

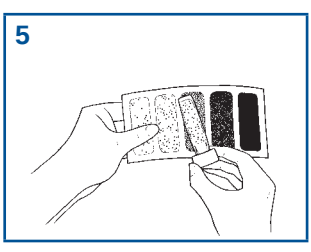
1A


1B


2


3


4


5


Explanation of symbols ● Erläuterung der Symbole ● Signification des symboles ● Simbología
Legenda ● Uitleg van de symbolen ● Forklaring af symboler ● Förklaring av symboler ● Symbolien selitykset

LOT		04 PE-LD	06 PS	06 PS
Batch code	Expiry date	Cap	Slide	Tube
Charge	Verwendbar bis	Deckel	Keimindikator	Röhrchen
Numéro de lot	Date de péremption	Bouchon	Lame	Tube
Número de lote	Fecha de caducidad	Tapón	Laminocultivo	Tubo
Lotto	Data di scadenza	Tappo	Slide (Lastrina)	Provetta
Batch code	Houdbaarheidsdatum	Dop	Afdrukplaatje	Buis
Lot nr.	Udløbsdato	Låg	Slide	Rør
Batch nr.	Utgångsdatum	Kork	Slide/Tryckplatta	Rör
Eräkoodi	Käytettävä ennen	Tulppa	Levy	Putki

Hygicult® E/ß-GUR

Instructions d'utilisation ● Français

Application
Les tests Hygicult E/ß-GUR sont destinés à la détection éventuelle des bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et à l'identification des espèces produisant des enzymes ß-glucuronidase.
La lame est recouverte d'un côté par un milieu VRB Agar (Violet Red Bile Agar avec addition de glucose) permettant la croissance des *Enterobacteriaceae* sous la forme de colonies rouges. La glucose permet aussi la croissance d'autres espèces sous forme de colonies rouges.
L'autre face de la lame est recouverte d'un milieu ß-Gur Agar incolore. Les espèces produisant des ß-glucuronidase peuvent se développer sur cette face sous la forme de colonies brunes.
Les tests peuvent être utilisés sur site pour le contrôle de différents types de matériaux, solides et liquides. Les lames sont parfaitement adaptées au transport des échantillons à analyser.
Note: Les valeurs limites de concentration microbienne dans l'eau potable sont trop faibles pour être détectées par la méthode Hygicult.

Contenu du kit

Hygicult E/ß-GUR	Cat. No. 68267
Tests	10 pièces
Etiquettes	10 pièces
Instructions d'utilisation	1 pièce

Formulation typique

Agar VRB modifié	ß-GUR Agar
Peptone	Sodium lauryl sulfate
Extrait de levure	8-hydroxyquinoline glucuronide
Chlorure de sodium	Extrait de levure
Lactose	Vitamines
Glucose D	Cysteine hydrochloride
Sels biliaires	Sulfate de magnésium
Rouge neutre	Sels biliares
Violet crystal	Chlorure de manganèse (II)
Agar agar	Citrate de fer (III)
Eau	Agar agar
	Eau

Recommandations et précautions
Ne pas utiliser le produit au delà de la date limite d'expiration indiquée sur le kit.
Ne pas utiliser le kit si vous remarquez:
- une décoloration ou une déshydratation de la gélose
- un décollement de la gélose
- des traces de croissance bactérienne ou de moisissures sur la lame.

Ne pas toucher les colonies microbiennes, qui peuvent se révéler pathogènes.

Stockage
Stocker les kits à température ambiante (environ 20°C) à l'abri des courants d'air, des fluctuations de température et des sources de lumière. Eviter le stockage à proximité de matériel dégageant de la chaleur. Protéger du gel. La date d'expiration (année-mois-jour) est inscrite sur la boîte et sur le capuchon de chaque tube.

Ensemencement
Pour éviter la contamination, la gélose ne doit pas entrer en contact avec un matériau autre que celui à tester. En revanche, il est important que la gélose entre entièrement en contact avec le milieu à tester. Après ensemencement, revisser correctement la lame dans le tube.

Ensemencement par contact (Fig. 1a, 1b)
Les surfaces solides peuvent être testées en pressant chaque face de la lame contre la surface pendant trois ou quatre secondes. La lame doit être maintenue pendant toute l'opération. L'articulation facilite son utilisation.

Par trempage (Fig. 2)
Les fluides sont testés en trempant la lame dans le liquide pendant trois ou quatre secondes. Absorber les dernières gouttes sur du papier absorbant.

Par écouvillonnage (Fig. 3)
Les matériaux semi-solides ou objets difficiles d'accès peuvent être testés en appliquant un coton-tige stérile sur une surface délimitée. Si l'objet est sec, le coton tige doit préalablement être humidifié au moyen d'eau stérilisée. Un coton tige humidifié peut également être utilisé pour obtenir des échantillons à partir de poudres (ex épices) ou de fluides visqueux.
Après le prélèvement, faire rouler le coton tige sur la surface de la gélose de gauche à droite et de bas en haut.

Incubation (Fig. 4)
Incuber la lame correctement replacée dans son tube à 35...37°C pendant 24 à 48 heures.

Interprétation des résultats (Fig. 5)
Oter la lame de son tube après incubation et déterminer la concentration microbienne (nombre d'unités formant des colonies, CFU) en examinant la couleur par comparaison avec le tableau de référence.
Les bactéries appartenant aux *Enterobacteriaceae* se développent sur le milieu Agar VRB modifié sous la forme de colonies rouges. Le glucose permet également à d'autres bactéries gram-négatives, par ex les espèces *Pseudomonas*, de se développer sous la forme de colonies rouges.
Les organismes ß-glucuronidase-positifs se développent sur le milieu β-GUR agar sous la forme de colonies ayant diverses teintes brunes. Comme la coloration de certaines taches à densité élevée (10^{6-7} CFU/ml) est parfois faible, toute teinte brune est indicative de la croissance d'organismes ß-glucuronidase-positifs. Une activité ß-glucuronidase est mise en évidence dans environ 90% des taches d' *Escherichia coli*. Certaines espèces de *Salmonella*, *Edwardsiella*, *Shigella* et *Yersinia* sont aussi productrices de ß-glucuronidase. Les taches gram-négatives sans activité ß-glucuronidase se développent sous la forme de colonies incolores sur le milieu agar.
La croissance des organismes gram-positifs est inhibée sur les deux milieux.
On peut utiliser les valeurs limites suivantes pour évaluer le degré de contamination.

	Inoculation par contact
Non contaminé	0 CFU/face
Contaminé	1–10 CFU/face
Très contaminé	> 10 CFU/face

La presence d'*Enterobacteriaceae* dans un aliment cuit signifie toujours une erreur de manipulation ou des conditions d'hygiène défectueuses.

Limites de la méthode
Lorsque utilisée en tant que lame de contact, le test Hygicult E/ß-GUR équivaut à la méthode par contact au niveau sensibilité, alors que les procédures de trempage et d'écouvillonnage ont un seuil de détection limité à 1000 CFU/ml. La concentration microbienne totale autorisée de l'eau potable est trop faible pour être détectée de façon fiable par la méthode Hygicult E/ß-GUR.
Les résultats obtenus par différentes méthodes d'ensemencement ne peuvent pas être comparés. On ne peut comparer des résultats de façon fiable qu'en utilisant la même technique, sur le même type de matériau.

Destruction
Toute croissance microbienne sur les lames peut être pathogène. Les lames utilisées doivent donc être détruites par incinération, stérilisation ou immersion d'une nuit dans un désinfectant approprié, toujours en conformité avec les lois et réglementations locales.

Hygicult® E/ß-GUR

Instrucciones de uso ● Español

Uso
Hygicult E/ß-GUR está diseñado para la detección presuntiva de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* y para la identificación de especies productoras de la enzima ß-glucuronidasa.
Por un lado el medio es VRB Agar modificado (Violet Red Bile Agar con adición de glucosa) que permite el crecimiento de las bacterias que pertenecen a las *Enterobacteriaceae* como colonias rojas. La glucosa también permite el crecimiento de otras especies como colonias rojas.
El otro lado del laminocultivo contiene el medio incoloro ß-Gur Agar. Este medio permite el crecimiento de las especies productoras de la ß-glucuronidasa como colonias marrones.
El análisis se puede hacer en el mismo tubo para controlar diferentes tipos de productos, tanto sólidos como líquidos. Si es necesario, los laminocultivos se pueden usar como medio de transporte para las muestras.
Nota: Los valores límite para el recuento microbiológico en agua potable son demasiado bajos para ser detectados con este método.

Contenido del kit

Hygicult E/ß-GUR	Cat. No. 68267
Laminocultivos	10 und
Etiquetas	10 und
Instrucciones de uso	1 und

Composición típica

VRB Agar modificado	ß-GUR Agar
Peptona	Lauril sulfato sódico
Extracto de levadura	8-hidroxiquinolina glucorónido
Cloruro sódico	Extracto de levadura
Lactosa	Vitaminas
D Glucosa	Hidrocloruro di Cisteína
Sales biliares	Sulfato magnésico
Rojo neutro	Sales biliares
Cristal violeta	Cloruro de Manganeso (II)
Agar agar	Citrato hierro (III)
Agua	Agar agar
	Agua

Precauciones
No usar el producto después de la fecha de caducidad indicada en la caja.
No usar el kit si detecta:
- decoloración o deshidratación del medio de crecimiento
- desprendimiento del medio de crecimiento del soporte plástico
- evidencia de crecimiento de bacterias o mohos

No tocar el crecimiento porque cualquiera de las colonias pueden ser patógenas.

Conservación
Almacenar el kit a temperatura ambiente (aprox. 20°C) protegido de la luz y corrientes de aire. Evitar fluctuaciones de temperatura. No conservar los kits cerca de fuentes de calor. No congelar el kit. La fecha de caducidad (año-mes-fecha) viene impresa en cada caja y en cada laminocultivo.

Muestreo
Para evitar contaminación, el medio de crecimiento no debe ponerse en contacto con otro material que no sea el material objeto de análisis. Es importante que el medio de crecimiento esté en contacto con el material a analizar. Después del muestreo introducir de nuevo el laminocultivo en el tubo y cerrarlo.

Inoculación por contacto (Fig. 1a, 1b)
Las superficies sólidas pueden ser examinadas presionando ambos lados del laminocultivo firmemente durante tres o cuatro segundos. Presionar el laminocultivo durante el muestreo. La posibilidad de doblar la lámina facilita el contacto.

Inmersión (Fig. 2)
Las muestras fluidas se inoculan sumergiendo el laminocultivo en el líquido durante tres o cuatro segundos. Secar las últimas gotas con un papel absorbente.

Adsorción (Fig. 3)
Para las muestras semisólidas o de difícil acceso se puede utilizar un hisopo estéril, tomando la muestra de un área delimitada con un marco. Si el objeto a muestrear es seco se debe humedecer previamente el hisopo con agua estéril. El hisopo humedecido se puede usar también para obtener muestras a partir de polvos (Ej. especies) o fluidos viscosos.
Después de pasar el hisopo por el área, pasarlo por la superficie del agar del laminocultivo de izquierda a derecha y de arriba a abajo.

Incubación (Fig. 4)
Incubar el laminocultivo bien cerrado en su propio tubo a 35...37°C durante 24–48 horas.

Interpretación de resultados (Fig. 5)
Retirar la lámina del tubo después de la incubación y determinar el recuento microbiano (número de unidades formadoras de colonias, UFC). Examinar el color de las colonias por comparación con la tabla modelo (model chart).
Las bacterias que pertenecen a las *Enterobacteriaceae* crecen en el medio VRB Agar modificado como colonias rojas. La glucosa también permite el crecimiento de otras bacterias gram-negativas como *Pseudomonas*, formando colonias rojas.
Los microorganismos ß-glucuronidasa-positivos crecen en β-GUR agar como colonias marrones de diferentes tonos. La coloración puede ser débil en algunas cepas a altas concentraciones de 10^{6-7} UFC/ml, por lo que cualquier indicio de coloración marrón indica crecimiento ß-glucuronidasa-positivo. La actividad ß-glucuronidasa se encuentra en un 90% de las cepas de *Escherichia coli*. Algunas especies de *Salmonella*, *Edwardsiella*, *Shigella* y *Yersinia* también son productoras de ß-glucurónidos. Las cepas gram-negativas sin actividad ß-glucuronidasa crecen como colonias incoloras en este agar.
El crecimiento de microorganismos gram-positivos está inhibido en los dos agares.
Los siguientes niveles se pueden considerar como una base aproximada para evaluar el grado de contaminación microbiana:

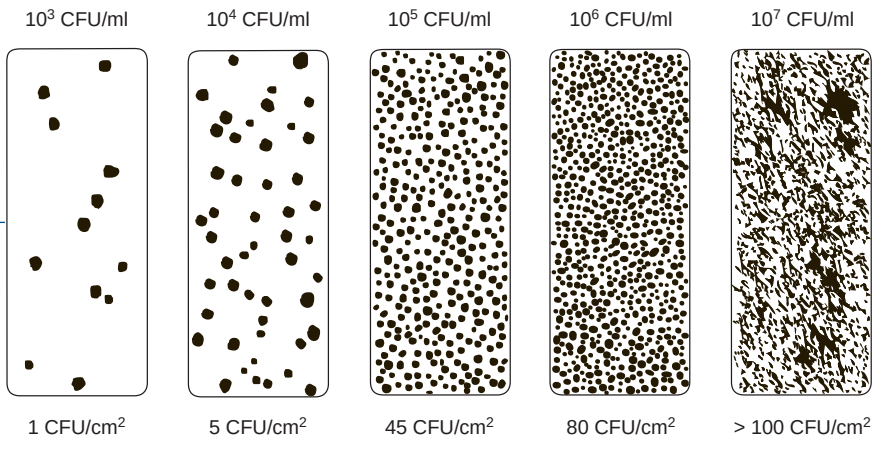
	Inoculación por contacto
Aceptable	0 UFC/lado
Contaminado	1–10 UFC/lado
Muy contaminado	> 10 UFC/lado

La presencia de *Enterobacteriaceae* en alimentos cocinados siempre indica mala manipulación del producto o higiene incorrecta.

Limitaciones del método
Si el Hygicult E/ß-GUR se utiliza como placa de contacto, la sensibilidad del método es equivalente al muestreo con placas de contacto. Si se utiliza por inmersión y adsorción tiene un límite de detección de 1000 UFC/ml. La concentración de microorganismos totales permitida en aguas potables es demasiado baja para poder ser detectada con el Hygicult E/ß-GUR.
Los resultados obtenidos por diferentes métodos de inoculación de materiales y productos diversos no deben compararse entre sí. Solo se pueden hacer comparaciones válidas entre resultados obtenidos con la misma técnica en el mismo tipo de producto.

Eliminación
Cualquier crecimiento en las placas puede ser patogénico. Los laminocultivos usados se deben eliminar por incineración, autoclave o inmersión en un desinfectante durante una noche, siempre siguiendo las normativas y legislación local.

Model Density Chart ● Auswertungstableau ● Tableau de référence
Tabla comparativa ● Tabella comparativa ● Model Density Chart
Modelkort ● Tolkningsmall ● Mallitaulu



The charts provide the approximate microbial count in powers of ten.
Die Abbildungen zeigen die ungefähre Belastung in Zehnerpotenzen.
Les tableaux indiquent la concentration microbienne approximative en puissances de dix.
La tabla comparativa muestra un recuento microbiano aproximado en potencias decimales.
Le tabelle forniscono il valore della carica microbica approssimata in potenze decimali.
De kaart geeft bij benadering de telling van het aantal micro-organismen aan in een veelvoud van 10.
Kortene viser det omtrentlige antal bakteriekolonier i 10'er potens.
Mallen anger den ungefärliga bakteriehalten i tal upphöjt till tio.
Mikrobimäärät ilmoitetaan mallitaulussa kymmenpotensseina.

Hygicult® E/ß-GUR

Istruzioni per l'uso • Italiano

Uso
Le slides Hygicult E/ß-GUR sono state ideate per la determinazione presuntiva dei batteri appartenenti alla famiglia delle *Enterobacteriaceae* e per l'identificazione di specie che producono l'enzima ß-glucuronidasi.
La slide è ricoperta su di un lato da Agar VRB modificato (Agar Violet Red Bile Agar con l'aggiunta di glucosio) che consente alle *Enterobacteriaceae* di crescere come colonie rosse. Il glucosio consente anche ad alcune altre specie di crescere come colonie rosse.
L'altro lato della slide è ricoperto dal terreno incolore Agar ß-Gur. Le specie che producono la ß-glucuronidasi sono in grado di crescre su questo lato della lastrina come colonie marroni.
L'analisi può essere condotta direttamente in loco per monitorare vari tipi di materiali solidi o liquidi. Se necessario, le slides possono essere utilizzate per trasportare comodamente i campioni.
Nota: I valori limite per la conta microbica nell'acqua potabile sono troppo bassi per essere rilevati con il metodo Hygicult.

Contenuto del kit

Hygicult E/ß-GUR	Cat. No. 68267
Slides (lastrine)	10 pz
Etichette	10 pz
Istruzioni per l'uso	1 pz

Composizione tipica

Agar VRB modificato	Agar ß-GUR
Peptone	Lauril solfato di sodio
Estratto di lievito	Glucuronide di 8-idrossichinolina
Cloruro di sodio	Estratto di lievito
Lattosio	Vitamine
D Glucosio	Idrocloruro di cisteina
Sali biliari	Solfato di magnesio
Rosso neutro	Sali biliari
Cristal violetto	Cloruro de manganese (II)
Agar agar	Citrato di ferro (III)
Acqua	Agar agar
	Acqua

Avvertenze e precauzioni
Non utilizzare il prodotto dopo la data di scadenza indicata sulla confezione.
Non utilizzare il kit in caso di:
- decolorazione o deidratazione del mezzo di coltura
- distacco del mezzo di coltura dal supporto
- evidenza di crescita batterica o fungina

Non toccare le slides dopo la coltura perché ogni colonia cresciuta potrebbe essere patogena.

Conservazione
Conservare il kit a temperatura ambiente (appross. 20°C) protetto da correnti d'aria, fluttuazioni di temperatura e sorgenti di luce. Evitare la conservazione vicino ad apparecchi che generano calore. Non congelare. La data di scadenza (anno-mese-giorno) è indicata sulla scatola del kit e sul tappo di ciascuna slide.

Campionamento
Per evitare contaminazioni, il mezzo di coltura non deve entrare in contatto con materiale diverso da quello da testare. D'altra parte, è importante che il mezzo di coltura aderisca completamente al materiale da testare. Dopo il campionamento riavvitare bene la slide nel proprio tubo.

Per contatto (Fig. 1a, 1b)
Le superfici solide vengono testate premendo saldamente ogni lato della slide sulla superficie per tre o quattro secondi. La slide va tenuta ferma durante la pressione. Lo snodo della slide ne facilita l'uso.

Per immersione (Fig. 2)
I campioni fluidi vengono testati immergendo la slide nel liquido per tre o quattro secondi. Sgocciolare la slide su carta assorbente.

Con tampone (Fig. 3)
Materiali semisolidi o oggetti difficilmente raggiungibili possono essere testati strisciando attentamente un tampone sterile su un'area circoscritta utilizzando ad es. uno stampo. Se l'oggetto è asciutto, il tampone deve essere prima umidificato con acqua sterile. Il tampone umidificato può anche essere utilizzato per testare polveri (ad es. spezie) o liquidi viscosi.
Dopo avere campionato l'area, strisciare il tampone delicatamente sulla superficie della slide da sinistra a destra e dal basso verso l'alto.

Incubazione (Fig. 4)
Incubare le slides ben chiuse nel proprio tubo a 35…37°C per 24–48 ore.

Interpretazione dei risultati (Fig. 5)
Dopo l'incubazione rimuovere la slide dal proprio contenitore e determinare la carica microbica (numero di unità formanti colonia, UFC) confrontando la densità di crescita sulla slide con l'apposita tabella comparativa illustrata.
I batteri appartenenti alle *Enterobatteriaceae* crescono su Agar VRB modificato come colonie rosse. Il glucosio consente ad alcuni altri batteri gram-negativi, per es. *Pseudomonas* species, di crescere come colonie rosse.
I microrganismi ß-glucuronidasi-positivi crescono su agar β-GUR come colonie marroni di varie forme. Visto che la colorazione può risultare debole per alcuni ceppi ad elevate densità (10^{6-7} UFC/ml), ogni lieve ombra marrone è indice di crescita di ß-glucuronidasi-positivi. Quasi il 90% dei ceppi di *Escherichia coli* hanno attività ß-glucuronidasica. Alcune specie di *Salmonella*, *Edwardsiella*, *Shigella* e *Yersinia* sono anch'esse produttrici di ß-glucuronidasi. Ceppi Gram-negativi che non hanno attività ß-glucuronidasica possono crescere su quest'agar come colonie incolori.
La crescita dei batteri gram-positivi è inibita in entrambi i terreni.
I seguenti livelli possono essere considerati una base orientativa per la valutazione del grado di contaminazione:

	Inoculo per contatto
Pulito	0 UFC/lato
Contaminato	1–10 UFC/lato
Molto contaminato	> 10 UFC/lato

La presenza di *Enterobatteriaceae* in alimenti cotti è indice di un improprio trattamento e di scarsa igiene.

Limiti del metodo
Quando la slide Hygicult E/ß-GUR è usata come piastra da contatto il risultato eguaglia in termini di sensibilità quello della conta su piastra, invece il limite di rilevabilità per la procedura di campionamento per immersione o mediante tampone è di 1000 UFC/ml. La carica microbica totale ammessa nell'acqua potabile è troppo bassa per essere rilevata con l'utilizzo dell'Hygicult E/ß-GUR.
Risultati ottenuti con sistemi di inoculo differenti non possono essere confrontati. Confronti validi si possono ottenere soltanto utilizzando la stessa tecnica sullo stesso tipo di materiale.

Smaltimento
Ogni organismo cresciuto sulla slide potrebbe essere patogeno. Quindi le slides utilizzate devono essere smaltite per incenerimento, autoclavaggio, o per immersione in disinfettante over night e sempre secondo la normativa locale.

Hygicult® E/ß-GUR

Gebruiksaanwijzing • Nederlands

Gebruik
Hygicult E/ß-GUR afdrukplaatjes zijn bedoeld voor de bepaling van bacteriën, die tot de *Enterobacteriaceae* familie behoren en voor identificatie van soorten, die ß-glucuronidase enzym produceren.
Het plaatje is aan één zijde bedekt met gemodificeerde VRB Agar (Violet Red Bile Agar waaraan glucose is toegevoegd). Hierop groeien bacteriën die tot de *Enterobacteriaceae* behoren als rode kolonies. Door de glucose kunnen sommige andere soorten bacteriën ook groeien als rode kolonies.
De andere zijde van het plaatje is bedekt met kleurloze ß-Gur Agar. ß-glucuronidase producerende soorten groeien op deze zijde als bruine kolonies.
De test kan op locatie uitgevoerd worden voor monitoring van verschillende soorten materialen, zowel in vaste als in vloeibare vorm. De Hygicult is tevens een goed transportmiddel voor genomen monsters.
Opmerking: De norm voor het aantal micro-organismen in drinkwater is te laag om met de Hygicult methode te bepalen.

Inhoud van de kit

Hygicult E/ß-GUR	Cat. No. 68267
Afdrukplaatjes	10 stuks
Labels	10 stuks
Gebruiksaanwijzing	1 exemplaar

Samenstelling

Gemodificeerde VRB Agar	ß-GUR Agar
Peptone	Sodium lauryl sulphate
Yeast extract	8-hydroxyquinoline glucuronide
Sodium chloride	Yeast extract
Lactose	Vitamins
D-Glucose	Cysteine hydrochloride
Bile salts	Magnesium sulphate
Neutral red	Bile salts
Crystal violet	Manganese (II) chloride
Agar agar	Iron (III) citrate
Water	Agar agar
	Water

Waarschuwingen en voorzorgmaatregelen
Gebruik geen product dat over de houdbaarheidsdatum is, welke op de kit vermeld staat.
Gebruik de kit niet bij
- verkleuring of uitdroging van het medium
- een niet goed gesloten houder
- aanwezigheid van zichtbare groei van bacteriën of schimmels

Omdat de kolonies pathogeen kunnen zijn, dient contact hiermee te worden vermeden.

Opslag
Sla de kit op bij kamertemperatuur (ongeveer 20ºC) en bescherm het product tegen tocht, temperatuurwisselingen en lichtbronnen. Vermijdt opslag nabij warmtebronnen. Niet blootstellen aan bevriezing. De houdbaarheidsdatum (jaar-maand-dag) staat op het doosje en op de dop van elk plaatje.

Monstername
Om besmetting te vermijden mag het groeimedium niet in contact komen met ander materiaal dan het te bemonsteren oppervlak. Daarnaast is het van belang dat het groeimedium goed in contact wordt gebracht met het te testen materiaal. Na het nemen van het monster dient het plaatje weer goed terug op de buis geschroefd te worden.

Afdruk methode (Fig. 1a, 1b)
Vaste oppervlakken kunnen worden getest door beide zijden van het afdrukplaatje stevig tegen het oppervlak te drukken gedurende tenminste drie of vier seconden. Het plaatje moet op z'n plaats blijven gedurende het aandrukken. Het buigzame ontwerp maakt het gebruik gemakkelijk.

Dompelen (Fig. 2)
Vloeibare monsters worden getest door de voedingsbodem drie of vier seconden in de vloeistof te dompelen. Verwijder de overtollige druppels met absorberend papier.

Swabmethode (Fig. 3)
Producten in half vaste vorm of objecten die moeilijk te bereiken zijn kunnen worden getest door voorzichtig een steriele swab over een bepaald oppervlak te rollen. Als het object droog is, dient de swab eerst bevochtigd te worden met steriel water. De bevochtigde swab kan ook worden gebruikt voor het verkrijgen van monsters van poeders (b.v. specerijen) of viscose vloeistoffen.
Nadat met de swab een monster van het oppervlak is genomen rolt men de swab voorzichtig over het agar oppervlak van het plaatje, van links naar rechts en van onder naar boven.

Incubatie (Fig. 4)
Incubeer het plaatje in het goed afgesloten buisje bij 35…37°C gedurende 24–48 uur.

Interpretatie van de resultaten (Fig. 5)
Haal na incubatie het afdrukplaatje uit het buisje, indien dit voor het tellen van de kolonies nodig is. Bepaal de microbiologische groei (aantal "colony forming units", CFU) door de kleur reacties te vergelijken met de Model chart.
Bacteriën die tot de *Enterobacteriaceae* behoren groeien op de gemodificeerde VRB Agar als rode kolonies. Door de glucose kunnen ook sommige andere gram-negatieve bacteriën groeien als rode kolonies, b.v. *Pseudomonas* soorten.
ß-glucuronidase-positieve organismen groeien op β-GUR agar als kolonies in verschillende kleuren bruin. Omdat bij hoge aantallen (10^{6-7} CFU/ml) bij sommige stammen de kleur zwak kan zijn, is elke mate van bruinkleuring een indicatie voor ß-glucuronidase-positive groei. ß-glucuronidase activiteit wordt gevonden in ca. 90 % van de stammen *Escherichia coli*. Sommige soorten *Salmonella*, *Edwardsiella*, *Shigella* en *Yersinia* produceren ook ß-glucuronidase. Gram-negatieve stammen zonder ß-glucuronidase activiteit groeien als kleurloze kolonies op deze agar.
De groei van gram-positieve organismen wordt op beide media geremd.
De volgende niveaus kunnen beschouwd worden als een ruwe basis voor evaluatie van de mate van besmetting:

	Afdruk methode
Schoon	0 CFU/zijde
Besmet	1–10 CFU/zijde
Hoge besmettingsgraad	> 10 CFU/zijde

De aanwezigheid van *Enterobacteriaceae* in bereid voedsel wijst altijd op onjuiste behandeling van het produkt of onvoldoende hygiëne.

Beperkingen van de methode
Hygicult E/ß-GUR is net zo gevoelig als een afdrukplaatje bij de contact plaat methode[3]. De dompel en swab procedure hebben een detectie limit van 1000 CFU/ml. Het toegestane totale aantal micro-organismen van normaal drinkwater is te laag om betrouwbare resultaten te verkrijgen met het gebruik van Hygicult E/ß-GUR.
Resultaten, die verkregen zijn met verschillende methoden kunnen niet worden vergeleken. Geldige vergelijkingen kunnen alleen uitgevoerd worden met resultaten, die verkregen zijn met dezelfde techniek bij onderzoek van hetzelfde materiaal.

Vernietigen
Groei op de agar kan pathogene bacteriën bevatten. Daarom dienen gebruikte afdrukplaatjes vernietigd te worden door middel van verbranding, met behulp van een autoclaaf of onderdompeling gedurende één nacht in een desinfectans. Volg altijd de lokale wetgeving en richtlijnen.

Hygicult® E/ß-GUR

Brugsvejledning • Dansk

Anvendelse
Hygicult E/ß-GUR slides er påtænkt til bestemmelse af bakterier formentlig tilhørende *Enterobacteriaceae* arten og til identifikation af arter som producerer ß-glukoronidase enzym.
Sliden er dækket på den ene side med modificeret VRB Agar (rødviolet galde agar med tilsætning af glukose), som tillader bakterier tilhørende *Enterobacteriaceae* at vokse som røde kolonier. Glukosen tillader også nogle andre arter at vokse som røde kolonier.
Den anden side af sliden er dækket med farveløs ß-Gur Agar. Arter som producerer ß-glukoronidase er i stand til at vokse på denne side som brune kolonier.
Testen kan udføres på stedet for at monitorere forskellige typer materialer, såvel faste som flydende. Hvis det ønskes, kan slides hensigtsmæssigt anvendes som transportmedium for prøver.
Bemærk: Grænseværdierne for antal af mikroorganismer i normalt drikkevand er for lavt til at blive påvist ved Hygicult metoden.

Kit indhold

Hygicult E/ß-GUR	Varenummer 510068267
Test slides	10 stk.
Etiketter	10 stk.
Brugsvejledning	1 stk.

Typisk sammensætning

VRB Agar	ß-GUR Agar
Pepton	Natriumlaurylsulfat
Gærekstrakt	8-hydroxykinolin glukuronid
Natriumklorid	Gærekstrakt
Laktose	Vitaminer
Glukose D	Cystein hydroklorid
Galdesalte	Magnesiumsulfat
Neutral rød	Galdesalte
Krystal violet	Manganklorid
Agar agar	Ferricitrat
Vand	Agar agar
	Vand

Advarsler og forholdsregler
Anvend ikke produktet efter udløbsdatoen markeret på kittet.
Brug ikke kittet hvis du bemærker
- misfarvning eller udtørring af vækstmediet
- løsnet vækstmedie fra plastic-sliden
- tegn på bakterie- eller skimmelvækst

Undgå et berøre væksten, da enhver koloni, som vokser på sliden kan være patogen.

Opbevaring
Opbevar kittet ved stuetemperatur (ca. 20°C) på et mørkt og trækfrit sted, beskyttet fra temperaturudsving og lyskilder. Undgå opbevaring ved varmegenererende ting. Må ikke udsættes for frost. Holdbarhedsdatoen (år-mdr.-dag) er markeret på boksen og på låget af hver enkelt slide.

Testprocedure
For at undgå kontaminering er det vigtigt, at vækstmediet ikke kommer i kontakt med andet end det materiale, der skal testes. På den anden side er det vigtigt ved alle inokuleringsmetoder at vækstmediet kommer så meget som muligt i kontakt med materialet, der skal testes. Efter podningen skrues sliden omhyggeligt tilbage i røret.

Kontakt inokulation (podningsmetode) (Fig. 1a, 1b)
Faste overflader kan testes ved at trykke begge sider af sliden tæt mod overfladen i 3–4 sekunder.
Bemærk: Sliden kan bøjes. Sliden skal holdes roligt under presset. Det hængslede design letter brugen af sliden.

Neddypningsmetode (Fig. 2)
Flydende prøver undersøges ved at dyppe sliden ned i prøven i 3–4 sekunder. Dryp de sidste dråber af på absorberende papir. Neddypningen indvirker ikke på kvaliteten af væsken, der testes.

Swabmetode (Fig. 3)
Halvflydende materialer eller genstande som er svære at teste, kan testes ved omhyggeligt at rulle/stryge en steril vatpind over et begrænset areal ved at bruge f.eks. en skabelon. Hvis genstanden er tør, bør podepinden først fugtes med sterilt vand. Den fugtede vatpind kan også bruges til pulverprøver (f.eks. krydderier) eller sejtflydende væsker.
Efter prøvetagningen rulles/stryges podepinden forsigtigt henover begge agaroverflader på sliden fra venstre mod højre og fra bund til top.

./..

Inkubering (Fig. 4)
Inkubér sliden med tætlukket rør ved 35…37°C i 24–48 timer.

Tolkning af resultater (Fig. 5)
Sliden skrues forsigtigt ud af røret efter inkubation, og bakterieantallet (antall af koloniforme enheder, CFU) bestemmes og farvereaktionerne undersøges ved at sammenligne med modelkortet.
Bakterier tilhørende *Enterobactericeae* vokser på den modificerede VRB agar som røde kolonier. Glukosen tillader også nogle andre gram-negative bakterier, f.eks. *Pseudomonas* arter, at vokse som røde kolonier.
ß-glukoronidase-positive mikroorganismer vokser på β-GUR agar som kolonier i forskellige brune nuancer. Da farvestyrken kan være svag for nogle stammer ved høj densitet (10^{6-7} CFU/mL), vil enhver brunfravning være indikation på ß-glukoronidase-positive vækst. ß-glukoronidase aktivitet findes i ca 90% af *Escherichia coli* stammer. Nogle arter af *Salmonella*, *Edwardsiella*, *Shigella* og *Yersinia* er også ß-glukoronidase producerende. Gram-negative stammer uden ß-glukoronidase aktivitet vokser som farveløse kolonier på denne agar. Væksten af gram-positive organismer hæmmes på begge medier.
Følgende niveauer kan betragtes som en grov basis for vurdering af graden af kontaminering:

	Kontakt inokulation
Ren	0 CFU/side
Kontamineret	1–10 CFU/side
Meget kontamineret	> 10 CFU/side

Tilstedeværelsen af *Enterobacteriaceae* i bearbejdede fødevarer indikerer altid fejlbehandling af produktet eller utilstrækkelig hygiejne.

Begrænsninger for metoden
Hvis brugt som en kontakt slide, er Hygicult E/ß-GUR ligmed med kontakt plademetoden i sensitivitet, hvorimod neddybnings- og swabmetoden har en detektionsgrænse på 1000 CFU/mL. Den totale tilladte mikrobiologiske koncentration i normalt drikkevand er for lavt til at blive pålideligt bestemt ved Hygicult-metoden.
Resultater opnået ved forskellige inokulationsmetoder bør ikke sammenlignes. Gyldige sammenligninger kan kun foretages mellem resultater opnået med samme teknik på samme materialetype.

Destruktion
Enhver vækst på slides kan være patogen. Brugte slides skal derfor destrueres ved forbrænding, autoklavering eller neddyppes i et desinficerende middel natten over, i øvrigt ifølge lokale love og regulativer.

Hygicult® E/ß-GUR

Bruksanvisning ● Svenska

Avsedd användning
Hygicult E/ß-GUR slide är avsedd för upptäckt av bakterier sannolikt tillhörande familjen *Enterobacteriaceae* och för indentifiering av arter som producerar ß-glucuronidase enzym.
Sliden är täckt på ena sidan med modifierad VRB-agar (Violet Red Bile Agar med tillsats av glukos) vilken tillåter bakterier tillhörande *Enterobacteriaceae* att växa som röda kolonier. Glukosen tillåter också en del andra arter att växa som röda kolonier.
Slidens andra sida är täckt med färglös ß-Gur agar. ß-glucuronidase producerande arter växer på denna sida som bruna kolonier.
Testen kan utföras på plats för kontroll av olika typer av material, såväl fasta som flytande. Vid behov kan sliden användas som bekvämt transportsystem för prover.
Notera: Gränsvärdet för bakteriehalten i vanligt dricksvatten är för lågt för att pålitligt bestämmas med Hygicult-metoden.

Innehåll i förpackning

Hygicult E/ß-GUR	Artikelnummer 68267
Testslider	10 st
Etiketter	10 st
Bruksanvisning	1 st

Sammansättning

Modifierad VRB-agar	ß-GUR agar
Pepton	Natriumlaurylsulfat
Jästextrakt	8-hydroxykinolin glukuronid
Natriumklorid	Jästextrakt
Laktos	Vitaminer
Glukos D	Cysteinhydroklorid
Gallsalter	Magnesiumsultat
Neutralrött	Gallsalter
Kristallviolett	Mangan (II) klorid
Agar agar	Järn (III) citrat
Vatten	Agar agar
	Vatten

Att tänka på
Använd inte produkt efter passerat utgångsdatum märkt på förpackningen.
Använd inte testerna om du noterat
- missfärgning eller intorkning av tillväxtmediet
- att tillväxtmediet lossnat från plastsliden
- förekomst av bakterie eller mögelväxt

Vidrör ej växt på mediet, då alla kolonier som växer på mediet kan vara patogena.

Förvaring
Förvara förpackningen i rumstemperatur (ca 20°C) i skydd från drag, temperaturväxlingar och ljuskällor. Undvik förvaring i närheten av värmekällor. Testerna får ej frysa. Utgångsdatum (år-månad-dag) är märkt på förpackningen och på korken till varje rör.

Provtagning
För att undvika kontaminering, får tillväxtmediet ej komma i kontakt med något annat material än det som skall testas. Å andra sidan är det viktigt att tillväxtmediet kommer helt i kontakt med materialet som skall testas. Efter provtagning skruvas sliden tillbaka i röret.

Kontaktinokulering (Bild 1a, 1b)
Fasta ytor kan testas genom att bestämt trycka bägge sidorna av sliden mot ytan i tre eller fyra sekunder. Sliden skall hållas stilla under tiden. Den ledade sliden underlättar vid provtagningen.

Doppning (Bild 2)
Flytande prov kan testas genom doppning av sliden i tre eller fyra sekunder. Torka av de sista dropparna på ett absorberande papper.

Svabbning (Bild 3)
Halvfasta material eller föremål som är svåra att nå kan testas genom att noggrant rulla en steril provtagningspinne över en avgränsad yta, genom att t ex använda en ram. Om objektet är torrt, måste pinnen först fuktas med sterilt vatten. Fuktad pinne kan också användas för pulveriserade prover (t ex kryddor) eller trögflytande vätskor.
Efter svabbning av provtagningsytan, rulla provtagningspinnen lätt över slidens agarytor från vänster till höger och från botten till toppen.

Inkubering (Bild 4)
Inkubera sliden tätt åtskruvad i sitt rör i 35…37°C i 24–48 timmar.

Tolkning av resultat (Bild 5)
Ta ut sliden från sitt rör efter inkubering, räkna bakteriekolonierna (antal koloniformationer, CFU) och undersök färgreaktioner genom jämförelse med tolkningsmallen.
Bakterier tillhörande *Enterobacteriaceae* växer på det modifierade VRB-agaret som röda kolonier. Glukosen tillåter också en del andra gramnegativa bakterier, t ex *Pseudomonas*-arter, att växa som röda kolonier.
ß-glucuronidase-positiva organismer växer på β-GUR agar som kolonier i varierande bruna nyanser. Då färgreaktionen kan vara svag för vissa stammar vid hög växttäthet (10^{6-7} CFU/ml), tyder varje nyans av brunt på ß-glucuronidase-positiv växt. ß-glucuronidase aktivitet hittas i ca. 90 % av stammar av *Escherichia coli*. En del stammar av *Salmonella*, *Edwardsiella*, *Shigella* och *Yersinia* producerar också ß-glucuronidase. Gramnegativa stammar utan ß-glucuronidase aktivitet växer som färglösa kolonier på detta agar.
Växt av grampositiva organismer hämmas på båda medierna.
Följande nivåer kan betraktas som grova riktvärden vid bedömning av graden av förorening:

	Kontaktinokulering
Rent	0 CFU/sida
Förorenat	1–10 CFU/sida
Mycket förorenat	> 10 CFU/sida

Förekomst av *Enterobacteriaceae* i tillagade livsmedel är alltid en indikation på felbehandling av produkten eller på bristande hygien.

Begränsningar av metoden
Vid användning som tryckplatta, Hygicult E/ß-GUR motsvarar tryckplattemetoden i känslighet, medan dopp- och svabb metoden har en detektionsgräns på 1000 CFU/ml. Den tillåtna totala bakteriehalten i normalt dricksvatten är för låg för att tillförlitligt upptäckas med användning av Hygicult E/ß-GUR.
Resultat erhållna med andra inokuleringsmetoder kan inte jämföras med varandra. Jämförelser kan endast göras mellan resultat erhållna genom användande av samma teknik på samma typ av material.

Avfall
All växt på sliden kan vara patogen. Använda slider skall därför förstöras genom bränning, autoklavering eller nedsänkning i desinfektionslösning över natten, eller enligt lokala lagar och föreskrifter.

Hygicult® E/ß-GUR

Käyttöohje ● Suomi

Käyttötarkoitus
Hygicult E/ß-GUR testi on tarkoitettu *Enterobacteriaceae* -heimoon (enterobakteerit) kuuluvien bakteerien havaitsemiseen ja ß-glukuronidaasi-entsyymiä tuottavien lajien identifioimiseen.
Testilevyn toinen puoli on päällystetty modifioidulla VRB-elatusaineella (violetti-puna sappiagar, johon lisätty glukoosia). Tällä puolella punaisina pesäkkeinä kasvavat bakteerit ovat todennäköisiä enterobakteereja. Glukoosi mahdollistaa myös joidenkin muiden lajien, kuten pseudomonaksen kasvun punaisina pesäkkeinä.
Testilevyn toinen puoli on päällystetty värittömällä ß-Gur-agarilla, jolla ß-glukuronidaasi-entsyymiä tuottavat bakteerit kasvavat ruskeina pesäkkeinä.
Testi soveltuu pintojen, kiinteiden ja puolikiinteiden aineiden sekä nesteiden tutkimiseen. Testi voidaan tehdä paikan päällä ja se soveltuu hyvin myös näytteen kuljetusalustaksi.
Huom! Juomaveden sallittu mikrobimäärä on liian alhainen, jotta sitä voitaisiin seurata Hygicult-menetelmällä.

Testipakkauksen sisältö

Hygicult E/ß-GUR	Tuotenumero 68267
Testiputket	10 kpl
Näytetarrat	10 kpl
Käyttöohje	1 kpl

Tyypillinen koostumus

Modifioitu VRB-agar	ß-GUR agar
Peptoni	Natrium-lauryylisulfaatti
Hiivauute	8-hydroksikinoli glukuronidi
Natriumkloridi	Hiivauute
Laktoosi	Vitamiineja
Glukoosi	Kysteiini hydrokloridi
Sappisuolat	Magnesiumsulfaatti
Neutraalipuna	Sappisuoloja
Kristallivioletti	Mangaani (II) kloridi
Agar agar	Rauta (III) sitraatti
Vesi	Agar agar
	Vesi

Turvamääräykset ja varotoimenpiteet
Tuotetta ei tule käyttää pakkaukseen merkityn vanhenemispäivämäärän jälkeen.
Tuotetta ei tule käyttää, jos
- elatusaineessa esiintyy värimuutoksia tai kuivumista
- elatusaine on irronnut levyltä
- elatusaineella esiintyy mikrobikasvua

Kasvustoa ei tule koskettaa, koska elatusaineella kasvavat pesäkkeet saattavat olla tauteja aiheuttavia.

Säilytys
Säilytä testipakkaus huoneenlämmössä (noin 20°C) vedolta, lämpötilan vaihteluilta ja valonlähteiltä suojattuna. Vältä säilytystä lämpöä tuottavien laitteiden läheisyydessä. Levyt eivät saa jäätyä. Vanhenemispäivämäärä on merkitty sekä pakkaukseen että testiputken korkkiin.

Näytteenotto
Näytteenoton yhteydessä on tärkeää, ettei elatusaine joudu kosketuksiin muun kuin varsinaisen näytteen tai näytteenottokohdan kanssa. Toisaalta on tärkeää, että koko elatusainepinta tulee kosketuksiin tutkittavan kohteen kanssa. Näytteenoton jälkeen levy laitetaan takaisin putkeen, ja putki suljetaan huolellisesti.

Pintapainallusmenetelmä (kuvat 1a, 1b)
Kiinteitä pintoja voidaan tutkia painamalla levyn kumpaakin puolta tiiviisti tutkittavaa pintaa vasten 3–4 sekunnin ajan. Levyä ei tule liikutella painamisen aikana. Levyn muovinivel helpottaa pintanäytteenottoa.

Kastaminen (kuva 2)
Nestemäiset näytteet tutkitaan kastamalla Hygicult -levy näytteeseen 3-4 sekunnin ajaksi. Ylimääräiset tipat imeytetään paperiin.

Vanutuppomenetelmä (kuva 3)
Puolikiinteät tai vaikeasti saavutettavat kohteet voidaan tutkia pyörittäen steriiliä vanupuikkoa huolellisesti tutkittavalla pinnalla käyttäen apuna halutun pinta-alan rajaavaa kehystä. Mikäli pinta on kuiva, vanupuikko tulee ensin kostuttaa steriilillä vedellä. Kostutettua vanupuikkoa voidaan käyttää myös otettaessa näytteitä jauheista (esim. mausteet) tai viskoosisista nesteistä.
Näytteenoton jälkeen vanupuikkoa pyöritellään huolellisesti elatusainepinnoilla vasemmalta oikealle ja alhaalta ylös.

Inkubointi (kuva 4)
Levyjä inkuboidaan huolellisesti suljetussa suojaputkessaan 35…37°C:ssa 24–48 tuntia.

Tuloksen tulkinta (kuva 5)
Inkuboinnin jälkeen testilevy otetaan pois putkesta ja mikrobimäärä (pesäkkeitä muodostava yksikkö, pmy, CFU) määritetään vertaamalla levyn kasvutiheyttä ja värireaktiota (pesäkkeiden väriä) käyttöohjeen mallitauluun. Pesäkkeet on myös mahdollista laskea.
Enterobakteerit kasvavat modifioidulla VRB-agarilla punaisina pesäkkeinä. Glukoosi mahdollistaa myös joidenkin muiden gram-negatiivisten bakteereiden, kuten *Pseudomonas*-lajien kasvavan punaisina pesäkkeinä.
ß-glukuronidaasipositiiviset organismit kasvavat β-GUR-agarilla ruskeina pesäkkeinä. Joidenkin lajien ruskea väri voi olla varsinkin suurilla tiheyksillä hyvinkin vaalea (10^{6-7} CFU/ml), mutta mikä tahansa ruskea väri osoittaa ß-glukuronidaasipositiivisten mikrobien kasvua.
Escherichia coli -lajeista n. 90% on ß-glukuronidaasiaktiivisia. Myös *Salmonella*, *Edwardsiella*, *Shigella* ja *Yersinia* ovat ß-glukuronidaasia tuottavia lajeja. Ne Gram-negatiiviset lajit, jotka eivät tuota ß-glukuronidaasia kasvavat agarilla värittöminä pesäkkeinä. Gram-positiivisten organismien kasvu on estetty molemmissa elatusaineissa.
Seuraavia raja-arvoja voidaan pitää karkeana perustana arvioitaessa kontaminaatioastetta.

	Pintanäyte
Puhdas	0 pmy/puoli
Kontaminoitunut	1–10 pmy/puoli
Hyvin kontaminoitunut	> 10 pmy/puoli

Enterobakteerien esiintyminen kuumennetuissa ruoissa on aina osoitus väärästä käsittelystä ja/tai heikosta hygieniatasosta.

Menetelmän rajoitukset
Käytettäessä kontaktinäytteenottomenetelmää Hygicult E/ß-GUR -menetelmän herkkyys vastaa perinteistä viljelymenetelmää. Kasto- ja vanutuppomenetelmän herkkyysraja on 1000 pmy/ml. Normaalin juomaveden mikrobimäärät ovat liian alhaiset määritettäväksi luotettavasti Hygicult E/ß-GUR-menetelmällä.
Eri menetelmillä tai erilaisilta pinnoilta otettuja testituloksia ei pidä verrata keskenään. Vain samalla menetelmällä samanlaisilta pinnoilta otetut näytteet ovat keskenään kvantitatiivisesti vertailukelpoisia.

Testien hävittäminen
Koska kasvusto levyllä voi olla tauteja aiheuttavaa, käytetyt testilevyt on hävitettävä joko polttamalla, autoklavoimalla tai pitämällä levyjä desinfektoivassa liuoksessa yön yli noudattaen paikallisia ohjeita ja määräyksiä.

Manufacturer ● Hersteller ● Fabricant ● Fabricante
Produttore ● Producent ● Tillverkare ● Valmistaja

Hygicult® is a registered trademark of Orion Diagnostica Oy.

Orion Diagnostica

Orion Diagnostica Oy
P.O.Box 83, FI-02101 Espoo, Finland
Tel. +358 10 4261, Fax +358 10 426 2794
www.oriondiagnostica.com

Lönnberg Print – 8/2008