

Referencia: 101274ZA

Ficha Técnica

Producto: Chromocult® Coliform Agar (ISO)



Especificación

Medio de cultivo sólido, selectivo y diferencial para la detección de coliformes totales y *E. coli* en muestras de aguas por el método de MF según normativa ISO 9308-1.

Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
20 Placas			
90 mm	1 caja con 2 paquetes de 10 placas, envueltas por	3 meses	2-14 °C
con: 21 ± 2 ml	bolsa de celofán.		

Composición

Composición (g/l):	
Digerido enzimático de caseína.....	1,00
Extracto de levadura.....	2,00
Sodio cloruro.....	5,00
Sodio dihidrogeno fosfato.....	2,20
Hidrogenofosfato disódico.....	2,70
Piruvato sódico.....	1,00
Triptofano.....	1,00
Sorbitol.....	1,00
Tergitol® 7.....	0,15
6-Cloro-3-indoxil-	
β-D-galactopiranosido.....	0,20
5-Bromo-4-cloro-3-	
indoxil-β-D-glucuronido.....	0,10
IPTG.....	0,10
Agar.....	10,0

Descripción/Técnica

Descripción:

La acción combinada de la peptona, el piruvato y el sorbitol permiten una rápida formación de colonias en este medio tamponado con los fosfatos y ajustado osmóticamente con el cloruro sódico, facilitando el crecimiento incluso de bacterias coliformes muy estresadas.

La selectividad se consigue, en parte, con el Tergitol® 7 que reprime el crecimiento de las bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas sin afectar apenas a las coliformes.

La diferenciación colonial se consigue con la mezcla cromogénica que esta constituida por dos sustancias. El 6-cloro-3-indoxil-b-D-galactopiranosido (Salmon®-GAL) y el 5-bromo-4-cloro-3-indoxil-b-D-glucuronido (X-Glucuronido). La primera de ellas es selectivamente degradada por un enzima característico de los coliformes, la b-D-galactosidasa, provocando que la colonia de coliformes adquiera un color que va del salmón al rojo, en función de la intensidad de la actividad enzimática. La segunda sustancia cromogénica es atacada por la b-D-glucuronidasa, un enzima que presentan todas las cepas de *E. coli*, de forma casi exclusiva y que libera un pigmento azulado que tinte la colonia de tonos azules. *E. coli* posee los dos enzimas y ataca los dos sustratos cromogénicos con lo cual la colonia se tinte de un color azul oscuro a violáceo como resultado del acumulo de los dos pigmentos liberados. Los coliformes totales se consideran la suma de colonias de *E. coli* (azul oscuro-violeta) más las de coliformes (salmón-rojo). El IPTG, estimula las reacciones anteriores. Las otras colonias de bacterias Gram negativas aparecen incoloras, excepto algunas pocas capaces de producir glucuronidasa, que dan colonias de color azul claro a azul turquesa y que se diferencian bien de las de *E. coli* o de las coliformes. En cualquier caso, es recomendable verificar la identidad de *E. coli* por la producción de indol, ya que el triptófano se ha incluido en el medio con ese fin. Para ello se cubre la colonia azul oscuro-violeta con una gota del Reactivo de Kovacs para Indol. Si el reactivo vira a un color rojo cereza en pocos segundos se considera la producción de indol positiva y con ello la presencia de *E. coli* queda confirmada. Si el Agar Cromogénico para Coliformes se utiliza para la incubación de membranas filtrantes deberá tenerse en cuenta que el color y tamaño de las colonias puede modificarse por la composición y tipo de la membrana por lo cual se recomienda una validación previa del tipo de membrana filtrante utilizada. Este medio ha sido aceptado oficialmente por el Ministerio de Sanidad y Consumo de España como método alternativo para el análisis microbiológico del agua de consumo humano.

Recoger, diluir y preparar muestras y volúmenes que se van a filtrar según sea necesario de acuerdo a las especificaciones, directivas, reglamentos oficiales de la norma y / o resultados esperados.

Técnica :

La muestra de agua se filtra a través de una membrana de 0,45 µm de diámetro de poro, validada de acuerdo a la norma ISO 7704:1985, y la membrana se deposita boca arriba sobre una placa conteniendo el medio ACC, procurando que no se formen burbujas ni arrugas.

Se incuba la placa con la membrana durante 18-24 horas a 36 ± 2°C. Si a las 18 h aparecen colonias rojas o incoloras, prolongar la incubación hasta 24 h para incluir posibles reacciones tardías de β-galactosidasa o de β-glucuronidasa. Contar las colonias β-galactosidasa positivas (β-Gal+) y β-glucuronidasa negativas (β-Glucuro-), es decir las que tienen colores desde rosa asalmonado a rojo, como bacterias Coliformes distintas a *E. coli*. Contar las colonias β-galactosidasa positivas (β-Gal+) y β-glucuronidasa positivas (β-Glucuro+), es decir las que tienen colores desde azul oscuro a violeta, como *E. coli*. El recuento de bacterias Coliformes totales corresponde a la suma de las colonias de color rosa asalmonado a rojo y las colonias azul oscuro a violeta.

Revision date: 14/09/21



VWR International LLC, Radnor Corporate Center, Building One, Suite 200, 100 Matsonford Road Radnor, PA 19087
VWR International bv - Haasrode Research Park, Zone 2020 - Geldenaaksebaan 464 - BE-3001 Leuven

www.vwr.com

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Amarillo pálido pH: 6,8 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Inocular: rango práctico 10-100 UFC (Productividad) /10⁴-10⁶ (Selectividad)

Control microbiológico según normativa ISO 11133:2014/ A1:2018.

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020

Aerobiosis. Incubación a 36 ± 2 °C, lectura a las 18-24 h

Microorganismo

Escherichia coli ATCC® 25922, WDCM 00013
Escherichia coli ATCC® 8739, WDCM 00012
Citrobacter freundii ATCC® 43864, WDCM 00006
Ps. aeruginosa ATCC® 10145, WDCM 00024
Enterococcus faecalis ATCC® 19433, WDCM 00009

Desarrollo

Bueno (≥70%) colonias azul oscuro a violeta
Bueno (≥70%) colonias azul oscuro a violeta
Bueno (≥70%) Colonias salmón a rojas
Bueno - Colonias incoloras
Inhibición parcial

Control de Esterilidad

Incubación 48 horas a 30-35 °C y 48 horas a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO
Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones.

Bibliografía

- ADAMS, M., R.GRUBB, S.M. HAMER & A. CLIFFORD (1990) Colorimetric enumeration of *Escherichia coli* based on β-glucuronidase activity. Appl. Environ. Microbiol. 56:2021.
- ISO 7704 Standard (1985) Water Quality - Evaluation of membrane filters used for microbiological analyses.
- ISO 9308-1: 2014/Amd.1:2016(E) Water quality. Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria - Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- KILIAN, M. & P. BÜLOW (1976) Rapid Diagnostic of Enterobacteriaceae. I. Detection of bacterial glycosidases. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B 84:245-251.
- MANAFI, M & W. KNEIFEL (1989) A combined chromogenic-fluorogenic medium for the simultaneous detection of total coliform and *E. coli* in water. Zentralbl. Hyg. 189:225-234.
- MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO (2009) Orden SCO/778/2009 de 17 de marzo sobre métodos alternativos para el análisis microbiológico del agua de consumo humano. BOE. n.º 78 de 31-04-2009. Sección I, Págs. 30417-30420. Madrid.

Note: *Chromocult® is a trademark of Merck KGaA. This ready to use medium is made using only Chromocult® dehydrated media produced by Merck KGaA

Almacenamiento