Agar Cromogénico Coliformes (CCA) ISO

Cat. 2080

Medio selectivo para la detección simultánea de E. coli y otros coliformes en muestras de agua.

Información práctica

Aplicaciones	Categorias
Recuento selectivo	Coliformes
Recuento selectivo	Escherichia coli

Industria: Aguas de consumo

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 9308

Principios y usos

El Agar Cromogénico Coliformes (CCA) es un medio selectivo para la detección de E. coli y otros coliformes en aguas y alimentos. La recuperación y enumeración de Escherichia coli y coliformes son indicadores importantes de la higiene ambiental y alimentaria.

La interacción de los ingredientes en el medio, como la peptona, el sorbitol y el piruvato, permite un rápido crecimiento de las colonias, incluidos los coliformes infecciosos, y también permite la recuperación de coliformes dañados térmicamente de manera subletal. El Tergitol-7 inhibe las bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas sin afectar a las bacterias coliformes. La selectividad se ve aumentada por la cefsulodina y la vancomicina, suministradas por el Suplemento E. coli-Coliformes (Cat. 6041), actúan contra pseudomonas y bacterias Gram negativas, oxidasas positivas, enterococos y otras bacterias Gram positivas. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico y las sales de fosfato actúan como un sistema tampón. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

La detección de ß-glucuronidasa se utiliza en la diferenciación de Escherichia coli, ya que la enzima está presente en E. coli pero no en otros miembros del grupo coliforme. La mezcla cromogénica contiene sustratos cromogénicos: Salmon-GAL y X-glucurónido. Las enzimas coliformes producidas, como la ß-D-galactosidasa y la ß-D-glucuronidasa, escinden estos sustratos dando como resultado la diferente coloración de las colonias de bacterias. La ß-D-galactosidasa escinde el sustrato Salmon-GAL y da un color rojo salmón a las colonias de coliformes. La ß-D-glucuronidasa, una enzima característica de E. coli, escinde el X-glucurónido, dando un color azul a estas colonias. E. coli tiene las dos enzimas, y por lo tanto escinde ambas sustancias cromogénicas dando colonias de color azul oscuro a violeta. Los coliformes totales son la suma de colonias de E. coli más las colonias de color rojo/salmón. La adición de triptófano al medio permite realizar la prueba del Indol para una confirmación de E. coli más fiable.

Fórmula en g/L

Digerido enzimático de caseína	1	Agar bacteriológico	10
IPTG	0,1	Salmon-beta-D-Galactósido	0,2
Cloruro sódico	5	Piruvato sódico	1
Sorbitol	1	Tergitol® 15-S-7 surfactante	0,15
Triptófano	1	Sal X-beta-G-glucurónido CHX	0,1
Extracto de levadura	2	Dihidrógeno fosfato de sodio x 2H2O	2,2
Hidrógeno fosfato disódico	2,7		

Preparación

Suspender 26,45 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta dioslver por completo. EVITAR EL SOBRECALENTAMIENTO. NO AUTOCLAVAR. Enfriar a 45-50 ºC, homogenizar suavemente y dispensar en placas de Petri.

Instrucciones de uso

Para la enumeración de E. coli y bacterias coliformes de acuerdo a ISO 9308:
- Filtrar la muestra a través de una membrana
- Colocar el filtro de membrana sobre una placa de Agar Cromogénico Coliformes.
- Invertir la placa de Petri e incubar a 36±2 ºC durante 21±3 h.
- Contar las colonias de ß-D-galactosidasa (de color rosa a rojo) como presuntas bacterias coliformes que no son E. coli.
- Para evitar resultados falsos positivos, causados por bacterias oxidasa-positivas, por ejemplo, Aeromonas spp, confirmar las colonias bacterianas a

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

través de una reacción oxidasa-negativa.
- Las colonias positivas ß-D-galactosidasa y ß-D-glucuronidasa (azul oscuro a violeta) se cuentan como E. coli.
- El recuento total de bacterias coliformes es la suma de colonias oxidasa-negativas, colonias positivas a ß-D-galactosidasa (rosa a rojo) y todas las colonias que son azul oscuro a violeta.
- Algunas cepas de Shigella contienen la enzima ß-D-glucuronidasa y pueden crecer como colonias de color azul claro.
- Las colonias negativas de E. coli ß-glucuronidasa son incoloras, p. E. coli O157: H7.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25ºC)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Ámbar	6,8±0,2

Test microbiológico

De acuerdo a 11133:
Condiciones de incubación: (36±2 ºC / 21±3 h).
Condiciones de inoculación: Productividad cuantitativa (100±20. Min. 50 CFU) / Selectividad (10^4-10^6 CFU) / Especificidad (10^3-10^4 CFU).
Medio referencia: TSA.

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145	Crecimiento	Colonias incoloras
Enterobacter aerogenes ATCC 13048	Buen crecimiento >70%	Colonias de rojo a rosa
Enterococcus faecalis ATCC 19433	Inhibición total	
Escherichia coli ATCC 25922	Buen crecimiento >70%	Colonias azul oscuras a violeta
Escherichia coli ATCC 8739	Buen crecimiento >70%	Colonias azul oscuro a violeta

Almacenamiento

Temp. Min.:2 ºC
Temp. Max.:25 ºC

Bibliografía

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., Kansiime 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 ., M anafi M ., A moros I ., A lonso 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 Microbiologia, 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 ., S trathmann M ., O ssmer R. Performance validation of chromogenic coliform agar for the enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria. Lett. Appl. Microbiol. 2 013, 57 pp. 547–553 (http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/lam.12147/suppinfo) [7] http://www.wfcc.info/pdf/WDCM_Reference_Strain_Catalogue.pdf (viewed 03-01-2014)

DOMINIQUE DUTSCHER SAS