

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

### ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Αυτό το διπλό χρωμογόνο μέσο έχει αναπτυχθεί για την ταυτόχρονη ανίχνευση και απαρίθμηση της *Escherichia coli* και των Κολοβακτηριδίων (*Coliforms*) στο νερό.

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 Χ-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 Χ-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 κολοβακτηριδίων 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 2H <sub>2</sub> O	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
Χ-β-G-glucuronide	0,1
Isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside (IPTG)	0,1
Bacteriological agar	10.0

Εμφάνιση: Αχρόχρωμο διαυγές

Τελικό pH 6,8 ± 0.2.

### ΤΡΟΠΟΣ ΑΝΑΣΥΣΤΑΣΗΣ DCM 500gr.

Προσθήκη 26,45gr

E.COLI COLIFORMS CHROMOGENIC AGAR (CCA) σε 1Lt Απιονισμένο H<sub>2</sub>O.

Διαλύουμε το υλικό αναδεύοντας με ήπια θέρμανση μέχρι τους 95 °C.

Αποστείρωση του υλικού στους 100°C για 1 λεπτό.

Κρυώστε αναδεύοντας μέχρι τους 47 °C.

Διανομή υλικού στα τρυβλία 6cm / 9ml.

### ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

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

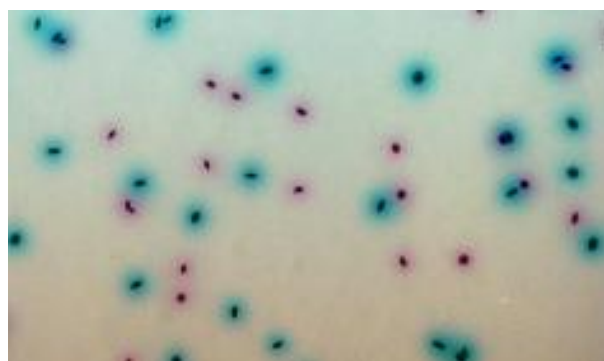
Ελέγξτε τις μπλε βιολετή αποικίες για παραγωγή ινδόλης με το αντιδραστήριο konak's (επιβεβαίωση *E. coli*).

**Σημείωση:** 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 βιολετή
<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 κόκκινες)

## ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

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

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΣΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 90mm	010572	10 τεμάχια	6 – 12 °C	3 μήνες
Τρυβλίο 60mm	050572	10 τεμάχια	6 – 12 °C	3 μήνες
DCM 500gr	2080	1 τεμάχιο	2 – 25 °C	2 χρόνια

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Βιορprepare σύμφωνα με τις απαιτήσεις της Ευρωπαϊκής οδηγίας 98/79/ΕΚ. ΦΕΚ Β2198/2-10-2009. Η εταιρεία Βιορprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα EN ISO 9001:2008 / 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. 2013, 57 pp. 547–553 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/lam.12147/supinfo>) [7] [http://www.wfcc.info/pdf/WDCM\\_Reference\\_Strain\\_Catalogue.pdf](http://www.wfcc.info/pdf/WDCM_Reference_Strain_Catalogue.pdf) (viewed 03-01-2014)