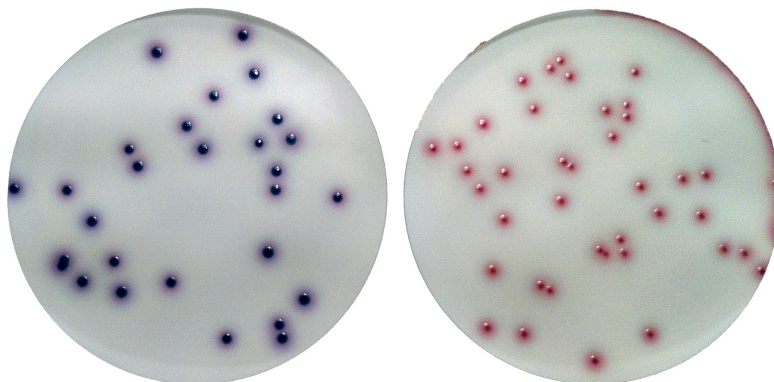


CHROMOGENIC COLIFORM AGAR ISO FORMULATION

Terreno in polvere e piastre pronte per l'uso per l'enumerazione di *Escherichia coli* e coliformi nelle acque in accordo alla norma ISO 9308-1:2014.



Chromogenic Coliform Agar ISO Formulation:
sulla sinistra *E.coli* con colonie blu;
sulla destra *Citrobacter freundii* con colonie rosse

FORMULA TIPICA (g/L)

Idrolizzato enzimatico di caseina	1,0
Estratto di lievito	2,0
Sodio cloruro	5,0
Sodio fosfato monobasico diidrato	2,2
Sodio fosfato bibasico	2,7
Sodio piruvato	1,0
Sorbitolo	1,0
Triptofano	1,0
Tergitol 7	0,15
Salmon- β -Galactoside	0,2
X- β -Glucuronide	0,1
Isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside (IPTG)	0,1
Agar	10,6

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 27,1 g di terreno in 1000 ml di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione. Non autoclavare, non surriscaldare. Raffreddare a circa 45-50°C e distribuire in piastre di petri per avere uno spessore di almeno 4 mm.

Il terreno dopo bollitura può presentarsi opalescente. Tale opalescenza, che non influisce sulle performances microbiologiche, normalmente scompare quando il terreno è raffreddato a 45-50°C per la distribuzione in piastra.

Conservare le piastre al buio a 5 ± 3 °C, protette dall'evaporazione per non più di 1 mese. Non vi deve essere acqua di condensa visibile nelle piastre, in caso contrario le piastre devono essere asciugate per il tempo minimo necessario a rimuovere l'umidità residua.

pH finale $6,8 \pm 0,2$

DESCRIZIONE

Chromogenic Coliform Agar ISO Formulation è un terreno selettivo e cromogeno per l'enumerazione contemporanea di *E. coli* e coliformi nelle acque in accordo alla norma ISO 9308-1:2014. A causa delle non elevate proprietà selettive, il terreno è raccomandato per campioni in cui si sospetta una modesta flora contaminante.

Il Tergitol 7 è un agente selettivo con proprietà inibitorie verso i batteri Gram positivi. La differenziazione dei coliformi (diversi da *E.coli*) e di *E. coli* è resa possibile dalla presenza dei substrati cromogenici Salmon β -Galactoside e X- β -Glucuronide per l'evidenziazione, rispettivamente della β -galattosidasi e della β -glucuronidasi. Il Salmon β -Galactoside è idrolizzato dai coliformi diversi da *E.coli*, con rilascio di un metabolita color rosa-rosso; tale reazione è potenziata dalla presenza nel terreno di IPTG (isopropil- β -D-tiogalattopiranoside). X- β -Glucuronide è idrolizzato, tra gli enterobatteri, da *Escherichia coli* e da pochi altri ceppi di *Salmonella* e *Shigella*; tale idrolisi si traduce nel rilascio di un metabolita di colore blu.

IMPIEGO

Filtrare 100 mL (o altro volume) di campione con una membrana filtrante (diametro membrana 47-50 mm, diametro pori 0.45 μ m). Il minimo volume filtrabile affinché il campione sia correttamente distribuito è di 10 mL. Dopo filtrazione, posizionare sul terreno la membrana assicurandosi che non rimanga aria intrappolata. Incubare a 36 ± 2 °C per 21 ± 3 ore.

Dopo incubazione si ottengono colonie con le seguenti caratteristiche:

- *Escherichia coli*: colonie blu o blu-viola

- Coliformi (diversi da *E. coli*): colonie con colore da rosa a rosso

I batteri Gram positivi sono generalmente inibiti. Per evitare falsi positivi da batteri Gram negativi, ossidasi positivi (es. *Aeromonas*), eseguire il test dell'ossidasi (Oxidase Test Strips cat. N° 191040ST).

Eseguire il test dell'ossidasi su tutte le colonie da rosa a rosso (coliformi diversi da *E.coli*) o su almeno 10 colonie. Il test deve risultare negativo.

I coliformi totali sono la somma delle colonie da rosa a rosso ossidasi negative e delle colonie blu o viola blu.

LIMITI DEL METODO

Alcuni ceppi di *E.coli* che non esprimono la β -glucuronidasi (es. *E.coli* O157) non possono essere determinati come *E.coli* con questo terreno. Essendo positivi alla β -galattosidasi coltiveranno con colonie rosa-rosso e saranno contati come coliformi.

CONTROLLO QUALITÀ (24 h-37°C)

Controllo produttività: *E.coli* ATCC 25922: crescita, colonie blu; *E.aerogenes* ATCC 13048: crescita, colonie rosa.

Controllo specificità: *P.aeruginosa* ATCC 10145: crescita, colonie incolori

Controllo selettività: *E.faecalis* ATCC 19433: inibito

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 2-8°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperta la confezione, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.)

Conservare il terreno in piastra preparato in laboratorio per un massimo di 1 mese a 2-8°C, protette dall'evaporazione

Terreno pronto all'uso in piastra: conservare a 2-8°C al riparo della luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

I preparati qui descritti non sono classificabili come pericolosi ai sensi della legislazione vigente.

Come per tutti i terreni in polvere, la manipolazione del Chromogenic Coliform Agar ISO Form. deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie. Non ingerire.

I prodotti qui descritti sono solo per uso di Laboratorio e devono essere usati da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare i materiali inoculati dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

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.

CONFEZIONI

TERRENO PRONTO ALL'USO

491297 Chromogenic Coliform Agar ISO Formulation

30 piastre, Ø 55 mm

TERRENO IN POLVERE

4012972 Chromogenic Coliform Agar ISO Formulation

500 g (18,6 L)