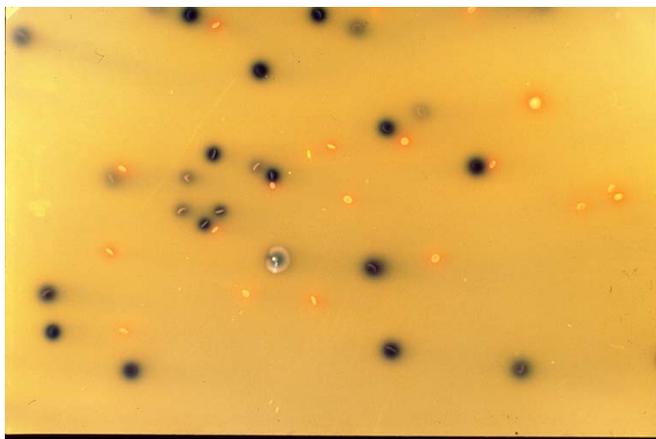


CHROMOGENIC COLIFORM AGAR

Per la determinazione simultanea dei coliformi
e di *Escherichia coli* con metodo cromogenico



Chromogenic Coliform Agar: *E.coli* colonie grigio- blu; *E.aerogens* colonie color salmone

FORMULA TIPICA (g/l)

Triptosio	10.00
Triptofano	0.10
Peptocomplex	5.00
Estratto di lievito	3.00
Sodio cloruro	5.00
Sali biliari n. 3	1.50
IPTG	0.10
X-GLUC	0.06
SALMON-GAL	0.15
Agar	13.00

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 37.9 g di terreno in 1000 ml di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione, distribuire e autoclavare a 121°C per 15 minuti.

pH finale 7.0 ± 0.2

PREPARAZIONE DEI FLACONI

Sciogliere il terreno nel flacone per bollitura in bagnomaria. Raffreddare a circa 50°C e distribuire in piastre Petri sterili.

pH 7.0 ± 0.2

DESCRIZIONE

Chromogenic Coliform Agar è un terreno selettivo e differenziale per la determinazione contemporanea di *E. coli* e coliformi nelle acque e negli alimenti. Il terreno è reso selettivo dalla presenza dei sali biliari; la differenziazione dei coliformi e di *E. coli* è resa possibile dalla presenza del substrato cromogenico Salmon-GAL, per l'evidenziazione della β -galattosidasi e del substrato cromogenico X-GLUC per l'evidenziazione della β -glucuronidasi. Il Salmon-Gal è idrolizzato dai coliformi con rilascio di un metabolita color salmone; tale reazione è potenziata dalla presenza nel terreno di IPTG (isopropil- β -D-tiogalattopiranoside). L'X-GLUC 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. Il triptofano contenuto nel terreno, consente di eseguire il test dell'indolo direttamente sulle colonie con l'aggiunta di reattivo di Kovacs', per la conferma di *E. coli*. Il terreno Chromogenic Coliform Agar è riportato nella rassegna dei terreni per l'analisi delle acque ISSN:1125-2464 e nella rassegna APAT-IRSA.

IMPIEGO

Eseguire la determinazione contemporanea dei coliformi e di *Escherichia coli*, impiegando le normali metodiche di laboratorio con semina per inclusione o in superficie o su membrane filtranti.

Dopo incubazione per 18-24 ore a 37°C, si ottengono colonie con le seguenti caratteristiche:

- *Escherichia coli*: colonie grigio blu, indolo positive
- Coliformi (diversi da *E. coli*): colonie color salmone
- *Proteus*: colonie con alone marroncino
- Altri enterobatteri: colonie incolori

I batteri Gram positivi sono generalmente inibiti. Il test dell'indolo è eseguibile aggiungendo qualche goccia di reattivo di Kovacs' alle colonie ed osservando per la formazione di un colore rosso entro 1-2 minuti.

La rassegna dei metodi microbiologi APAT-IRSA per la determinazione di *E.coli* nelle acque riporta la seguente procedura:

- Filtrare un'aliquota del campione o un volume di una sua diluizione attraverso una membrana di esteri di cellulosa con porosità di 0,45 µm di diametro. Porre la membrana sulla superficie del terreno di coltura e procedere all'incubazione a 36±1°C per 18-24 ore.
- *Escherichia coli* sviluppa colonie tipiche di colore grigio-blu. Le colonie di coliformi crescono di colore salmone e le colonie atipiche incolori.

CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE (24 h-37°C)

Controllo produttività:

E.coli ATCC 25922: crescita, colonie blu indolo positive

Controllo specificità

E.aerogenes ATCC 13048: crescita, colonie salmone, indolo negative

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 7 giorni a 2-8°C

Terreno pronto all'uso in flacone ed 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

Terreno in polvere il preparato qui descritto non è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente ma contiene sali biliari (classificabili come Xi irritanti) ad una concentrazione >1% e come tale richiede la scheda di sicurezza, che deve essere consultata prima dell'uso. Come per tutti i terreni in polvere anche la sua manipolazione deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie. Non ingerire.

Terreno pronto all'uso in flacone ed in piastra: i preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni ≥1%.

I prodotti qui descritti sono solo per uso diagnostico *in vitro* e devono essere usati in laboratorio, 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

- APAT-IRSA Metodi analitici per le acque, vol 3 n° 7000 - METODI PER LA DETERMINAZIONE DI MICROORGANISMI INDICATORI DI INQUINAMENTO E DI PATOGENI, n° 7030, 7030 - *Escherichia coli*. 2003
- Bonadonna L. *Escherichia coli* nelle acque significato sanitario e metodologie di analisi. ISSN:1125-2464, 2001

CONFEZIONI

TERRENO IN POLVERE:

4012991 Chromogenic Coliform Agar, 100 g (2,6 l)

4012992 Chromogenic Coliform Agar, 500 g (13 l)

TERRENO PRONTO ALL'USO:

5112992 Chromogenic Coliform Agar 6 flaconi da 100 ml,

497100 Chromogenic Coliform Agar 30 piastre, Ø 55 mm

541299 Chromogenic Coliform Agar 20 piastre, Ø 90 mm