

TECHNISCHES DATENBLATT

Artikel Nr. 9950

Chromogener Coliformen Agar (CCA), Fertigplatten

SYNONYME

CHROMagar, Chromogener Coliform Agar, Coliforme chromogener Agar

SPEZIFIKATION

Fertigplatten 90 mm. Selektiv- und Differenzialmedium für den Nachweis und die Auszählung von Coliformen und *E. coli* in Wasserproben mittels Membranfiltration. ISO 7704, ISO 9308.

Farbe: blasses/helles gelb
pH: 6,8 ±0,2 bei 25 °C

FORMULIERUNG* IN G/L

Enzymatischer Verdau von Casein	1,00
Hefeextrakt	2,00
Natriumchlorid	5,00
Di-Natriumhydrogenphosphat	2,70
Natrium-Dihydrogenphosphat-Dihydrat	2,20
Tryptophan	1,00
Natriumpyruvat	1,00
Tergitol® 7	0,15
Sorbitol	1,00
6-Chlor-3-Indoxyl-β-D-Galactopyranosid	0,20
5-Brom-4-Chlor-3-Indoxyl-β-D-Glucuronsäure	0,10
IPTG	0,10
Agar	13,00

VERPACKUNGSEINHEITEN

9950-20PLATES

20 Fertigplatten 90 mm

Inhalt: 21 ±2 ml

Verpackungseinheit: 1 Karton mit 2 Beuteln á 10 Platten/Beutel. Einfach in Zellophanfolie.



RICHTLINIEN

Beschreibung:

Die Kombination aus Pepton, Pyruvat und Sorbitol in diesem phosphatgepufferten Medium ermöglicht ein schnelles Wachstum der Kolonien und bietet ebenfalls eine Erholung von subletalen, thermisch geschädigten Coliformen. Natriumchlorid ermöglicht das korrekte osmotische Milieu, das für das Wachstum erforderlich ist. Eine gewisse Selektivität ist durch Tergitol® 7 gegeben, da das Wachstum von grampositiven und einigen gramnegativen Bakterien gehemmt wird, ohne dabei coliforme Bakterien zu beeinträchtigen. Die Differenzierung der Kolonien wird durch die chromogene Mischung ermöglicht, die zwei Enzymsubstrate beinhaltet: 6-Chlor-3-Indoxyl-β-D-Galactopyranosid (Salmon®-GAL) und 5-Brom-4-Chlor-3-Indoxyl-β-D-Glucuronid (X-Glucuronid). Die erste Substanz wird durch das charakteristische Enzym der Coliformen, die β-D-Galactosidase, gespalten und gibt den coliformen Kolonien eine lachsrote/lachsrosa Farbe. Die zweite chromogene Substanz wird durch das β-D-Glucuronidase-Enzym von *E. coli* gespalten, wodurch eine blaue Färbung auftritt. Da *E. coli* aber beide Enzyme exprimiert, spaltet es beide chromogene Substanzen und erzeugt dunkelblaue bis violette Kolonien. Die Gesamtzahl der coliformen Bakterien ergibt sich aus der Summe der *E. coli*-Kolonien und der lachsfarbenen Kolonien. IPTG verstärkt die oben beschriebenen Reaktionen. Andere gramnegative Bakterien bilden farblose Kolonien, mit Ausnahme einiger, die Glucuronidase-Aktivität (aber keine Galactosidase) besitzen und dadurch hellblaue bis türkisfarbene Kolonien bilden.

Zur weiteren Bestätigung der *E. coli*-Kolonien wird Tryptophan beigefügt, um die Indolproduktion zu überprüfen: Die blau-violetten Kolonien werden mit einem kleinen Tropfen Kovacs-Reagenz bedeckt. Färbt sich das Reagenz innerhalb weniger Sekunden kirschrot, kann dadurch die Produktion von Indol und damit die Anwesenheit von *E. coli* bestätigt werden.

Wenn der CCA Agar mit der Membranfiltrationsmethode verwendet wird, können Farbe und Wachstum der Kolonien durch die Eigenschaften des Membranfilters verändert werden. Es wird empfohlen, eine Validierung des verwendeten Membranfiltertyps durchzuführen. Das spanische Gesundheitsministerium (Ministerio de Sanidad y Consumo) hat dieses Medium offiziell als alternative Methodik für die mikrobiologische Analyse von Wasser für den menschlichen Gebrauch angenommen und gibt eine neue Definition für *Escherichia coli* ("Enterobacteriaceae, die die Enzyme β-D-Galactosidase und β-D-Glucuronidase gleichzeitig exprimieren") und coliforme Bakterien ("Enterobacteriaceae, die das Enzym β-D-Galactosidase exprimieren") an.

Limitierung des Verfahrens: Die Produktion von β-Galactosidase ist zwar allen Coliformen gemein, variiert jedoch von Stamm zu Stamm und wird durch Temperatur und Inkubationszeit beeinflusst. Bei Temperaturen über 37 °C nimmt die Produktion ab, was zu einem Verlust der rötlichen Farbintensität führt, während die bläulichen Farbtöne in den *Escherichia coli* Stämmen verstärkt werden. Bei Anwendung der Membranfiltrationsmethode ist zu berücksichtigen, dass Art und Eigenschaften der verwendeten Filtermembran auch Größe und Farbe der auf diesem Nährboden gewachsenen Kolonien beeinflussen.

Technik:

Eine Wasserprobe wird durch einen Membranfilter mit einem Porendurchmesser von 0,45 µm, der nach der ISO-Norm 7704:1985 validiert wurde, filtriert. Die Membran wird dann auf die Oberfläche des CCA Mediums gelegt, wobei der Einschluss von Luftblasen zwischen Membran und Agaroberfläche zu vermeiden ist. Die Platte mit der Membran wird 18-24 Stunden bei 36 ± 2 °C bebrütet. Treten nach 18 Stunden rote oder farblose Kolonien auf, so ist die Inkubation auf 24 Stunden zu verlängern, um auch späte Reaktionen der β-Galactosidase oder β-Glucuronidase zu erfassen. β-Galactosidase-positive Kolonien und β-Glucuronidase-negative Kolonien (alle lachsrosa bis rot gefärbten Kolonien) werden als coliforme Bakterien gezählt, nicht als *E. coli*. β-Galactosidase-positive Kolonien und β-Glucuronidase-positive Kolonien (alle von tiefblau bis violett gefärbten Kolonien) werden als *E. coli*-Kolonien gezählt. Die Gesamtzahl der coliformen Bakterien ergibt sich aus der Summe der lachsrosa bis roten Kolonien sowie der tiefblauen bis violetten Kolonien.

WACHSTUMSKONTROLLE

Membranfiltration/ Praktischer Bereich 100 ±20 KBE. Min. 50 KBE (Produktivität)/ 10⁴-10⁶ KBE (Selektivität)/ ≥10³ KBE (Spezifität).

Mikrobiologische Kontrolle gemäß ISO 11133:2014/A1:2018.

Analytische Methodik nach ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiose. Inkubation bei 36 ±2 °C, Überprüfen nach 21-24 h.

Mikroorganismus	Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922, WDCM 00013	Gut (≥70 %). Dunkelblaue bis violette Kolonien
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739, WDCM 00012	Gut (≥70 %). Dunkelblaue bis violette Kolonien
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC® 43864, WDCM 00006	Gut (≥70 %). Lachsfarbene bis rote Kolonien
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC® 10145, WDCM 00024	Gut. Farblose Kolonien
<i>E. faecalis</i> ATCC® 19433, WDCM 00009 (direct inoculation)	Inhibiert (teilweise bis komplett)

Sterilitätskontrolle:

Inkubation 48 Stunden bei 30-35 °C und 48 Stunden bei 20-25 °C: KEIN WACHSTUM.

Kontrolle 7 Tage nach der Inkubation unter den gleichen Bedingungen.

REFERENZEN

- 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. Zentralb. Hyg. 189:225-234.
- UNE-EN ISO 11133 (2014). Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua.-Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo.
- TURNER, K.M., L. RESTAINO & E.W. FRAMPTON (2000) Efficacy of Chromocult Coliform Agar for coliform and *Escherichia coli* detection in Foods. J. Food Protect. 63(4):539-541.

LAGERUNG

2-14 °C

HALTBARKEIT

3 Monate ungeöffnet ab Herstellungsdatum

Aktualisiert 28.08.2023

