



Referencia : 01-618

Scharlau Microbiology - Ficha de Datos Técnicos

Producto :

AGAR CROMOGENICO COLINSTANT

Especificación

Medio de cultivo sólido, selectivo y diferencial para la detección de coliformes totales y *E. coli* en muestras de aguas y alimentos.

Fórmula * en g/L

Triptona.....	10,00
Extracto de levadura.....	3,00
Extracto de carne.....	5,00
Sales biliares N.º 3.....	1,50
Fosfato disódico.....	2,70
Fosfato monosódico.....	2,20
Mezcla cromogénica.....	0,40
Agar.....	13,00

pH final a 25°C, 6,8 ±0,2

*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

Reconstitución

Suspender 37,8 g del polvo en 1 L de agua destilada. Llevar a ebullición y distribuir en contenedores adecuados. Esterilizar al autoclave durante 15 minutos a 121°C. Si el medio se usa el mismo día de su preparación se puede omitir la esterilización, prolongando la ebullición por 2-3 minutos.

Nota: Este es un medio de baja selectividad. Si se sospecha la presencia de microbiota acompañante muy abundante, especialmente *Pseudomonas* y/o *Aeromonas*, es conveniente aumentar la selectividad con la adición del contenido de un vial del Suplemento Selectivo CV para Coliformes (Ref. 06-140-LYO) en 500 mL de medio fundido y enfriado a 45-50°C.



Descripción

La baja selectividad del medio se logra exclusivamente por la acción tensoactiva de las sales biliares N.º 3 que inhiben a la mayoría de las bacterias Gram positivas contaminantes. Si se desea una mayor selectividad se recomienda la adición de agentes inhibidores adecuados como la Cefsuloidina u otros antibióticos de actividad semejante.

La mezcla Cromogénica esta constituida principalmente por dos sustancias. El 6-cloro-3-indolil- β -D-galactopiranosido y el 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucuronido. La primera de ellas es selectivamente degradada por un enzima característico de los coliformes, la β -D-galactosidasa, provocando que la colonia de coliformes adquiera un color que va del salmón al rojo, en función de la intensidad de la actividad enzimática.

La segunda sustancia Cromogénica es atacada por la β -D-glucuronidasa, un enzima que presentan todas las cepas de *E. coli*, de forma casi exclusiva y que libera un pigmento azulado que tiñe la colonia de tonos azules.

E. coli posee los dos enzimas y ataca los dos sustratos Cromogénicos con lo cual la colonia se tiñe de un color azul oscuro a violáceo como resultado del acúmulo de los dos pigmentos liberados. Los coliformes totales se consideran la suma de colonias de *E. coli* (azul oscuro-violeta) más las de coliformes (salmón-rojo).

Las otras colonias de bacterias Gram negativas aparecen incoloras, excepto algunas pocas capaces de producir glucuronidasa, que dan colonias de color azul claro a azul turquesa y que se diferencian bien de las de *E. coli* o de las coliformes.

En cualquier caso, es recomendable verificar la identidad de *E. coli* por la producción de indol. Para ello se cubre la colonia azul oscuro-violeta con una gota del Reactivo de Kovacs para Indol (Ref. RE0007). Si el reactivo vira a un color rojo cereza en pocos segundos se considera la producción de indol positiva y con ello la presencia de *E. coli* queda confirmada.

Si el Agar Cromogénico Colinstant se utiliza para la incubación de membranas filtrantes deberá tenerse en cuenta que el color y tamaño de las colonias puede modificarse por la composición y tipo de la membrana por lo cual se recomienda una validación previa del tipo de membrana filtrante utilizada.

Suplemento necesario

Suplemento Selectivo CV para Coliformes (Ref. 06-140-LYO)

Composición por vial:

Cantidad necesaria para 500 mL de medio completo.

Cefsulodina..... 2,50 mg

Vancomicina.....2,50 mg

Agua destilada (Disolvente)

Control de calidad

Temperatura de incubación: 35°C ±2,0

Tiempo de incubación : 24 h

Inóculo: 10-100 UFC (Productividad) // 1.000-10.000 UFC (Selectividad). Método de membrana filtrante o método de recuento en placa con siembra en espiral

Microorganismo

Escherichia coli ATCC 25922

Escherichia coli ATCC 11775

Salmonella enterica ATCC 13076

Salmonella typhimurium ATCC 14028

C. freundii ATCC 8090

Enterococcus faecalis ATCC 29212

Crecimiento

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Inhibido

Observaciones

Colonias: Azul violáceas

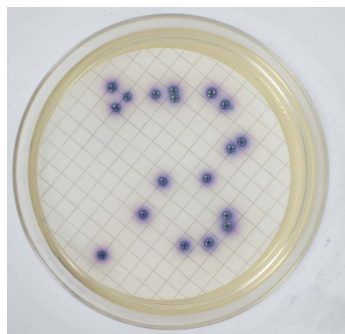
Colonias: Azul violáceas

Colonias: Incoloras

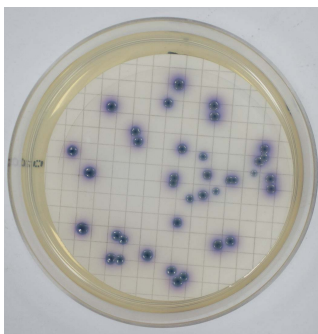
Colonias: Incoloras

Colonias: Salmon a rojizas

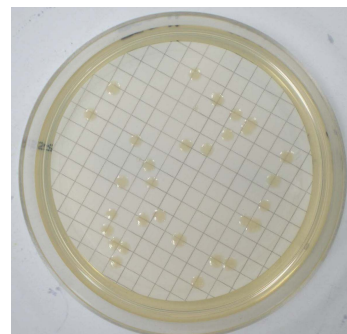
Selectividad



Escherichia coli ATCC 25922



Escherichia coli ATCC 11775



Salmonella typhimurium ATCC 14028

Bibliografía

- 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.
- KILIAN, M. & P. BÜLOW (1976) Rapid Diagnostic of Enterobacteriaceae. I. Detection of bacterial glycosidases. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B 84:245:251.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco (entre 4°C y 30°C, con humedad relativa menor del 60%).