

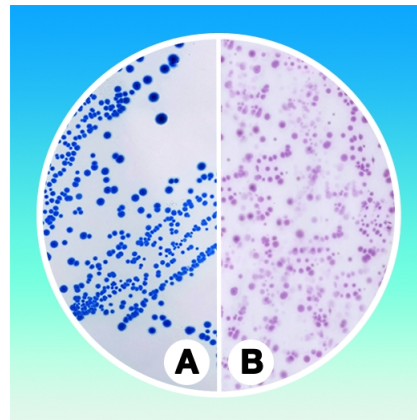
COLIFORME CHROMOGENER AGAR (ISO)

Zur Detektion und Zählung von *E. coli* und anderen Coliformen in Wasser.
Nach DIN EN ISO 9308-1

8849

Zusammensetzung in g/l (angenähert):

Natriumchlorid (NaCl).....	5,0
di-Natriumhydrogenphosphat	2,7
Natriumdihydrogenphosphat.....	2,2
Hefeextrakt	2,0
Casein, enzymatisch verdaut.....	1,0
Natriumpyruvat	1,0
Tryptophan	1,0
Sorbitol.....	1,0
Chromogene.....	0,4
Natriumheptadecylsulfat (Tergitol-7)	0,15
Agar	10
pH-Wert	6,8 ±0,2



A: *E. coli* ATCC 25922 (blau-dunkel violett)

B: *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 (rosa-rot)

HERSTELLUNG

26,45 g des Mediums werden in einem Liter dest. Wasser suspendiert. Man mische gut unter Erhitzen und unter häufigem Rühren/Schütteln. Man koche für eine Minute bis das Medium vollständig gelöst ist.

Nicht überhitzen! NICHT AUTOKLAVIEREN!

Man lasse es auf 45-50°C abkühlen und gieße in Petrischalen. Das fertige Medium ist bernsteinfarben. Es sollte bei 8-15 °C möglichst lichtgeschützt aufbewahrt werden.

EINSATZGEBIET

Der Coliforme Chromogene Agar wird von der ISO 9308-1 (CCA) als selektives Medium zur Detektion von *E. coli* und anderen Coliformen aus Wasser- und Lebensmittelproben empfohlen.

Die hochwertigen Inhaltsstoffe ermöglichen ein schnelles Kolonienwachstum, wobei Gram-positive Bakterien durch das enthaltene Tergitol 7 inhibiert werden. Das Medium enthält ebenfalls Tryptophan, wodurch mit den gewachsenen Kolonien ein Indoltest zur näheren Bestimmung von *E. coli* durchgeführt werden kann.

Durch die Bildung des Enzyms β -D-Galactosidase können coliforme Keime den chromogenen Bestandteil Salmon-gal umsetzen und erscheinen in roten Kolonien. Da *E. coli* zusätzlich β -D-Glucuronidase bildet und dadurch zusätzlich das X-Glucuronid umsetzt, sind diese Kolonien typischerweise dunkel blau-violett gefärbt.

Es wird nach der TWVO empfohlen, die Probe zunächst durch eine Membran zu filtrieren, die Membran auf eine CCA-Platte zu überführen und diese bei $36 \pm 2^\circ\text{C}$ für $21 \pm 3\text{h}$ zu inkubieren. Zur Auswertung wird zuerst die Zahl der roten Kolonien (Coliforme, nicht-*E. coli*) notiert. Kolonien, die nicht gefärbt sind, werden durch den Oxidase-Test als coliform (Oxidase-negativ) oder nicht coliform eingestuft. Anschließend werden dunkel blau-violette Kolonien als *E. coli* gezählt. Die Gesamtzahl an coliformen Bakterien ergibt sich aus allen Oxidase-negativen Kolonien, allen roten Kolonien und allen dunkel blau-violetten Kolonien.

Zu beachten ist: Manche Shigella-Stämme bilden ebenfalls Glucuronidase und wachsen daher in hellblauen Kolonien. *E. coli*-Stämme, die keine Glucuronidase bilden, wachsen in farblosen Kolonien, wie z.B. *E. coli* O157:H7.

MIKROBIOLOGISCHE TESTS

Die folgenden Ergebnisse wurden erzielt nach Inkubation von Referenzstämmen im angegebenen Medium / Agar bei einer Temperatur von $36 \pm 2^\circ\text{C}$, ausgewertet nach 21 ± 3 Stunden.

Mikroorganismen	Wachstum	Kolonienfarbe
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gut	Blau-dunkel Violett
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Gut	Blau-dunkel Violett
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Gut	Rosa-Rot
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	Gut	Farblos
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Gehemmt	---

Nach:

- 1.) DIN EN ISO 9308-1:2014-12 Wasserbeschaffenheit
- 2.) DIN EN ISO 7218:2014-09
- 3.) Byamukama et al (2000). *J. Appl Environ Microbiol.* 66(2): 864-868
- 4.) Geissler et al (2000). *J. Appl. Microbiol.* 88 : 280 - 285
- 5.) Ossmer et al (1999) Poster Presentation Congreso de la Sociedad, Espanola de Microbiologia, Granada, Spain.
- 6.) USEPA: 40 CFR Part 141: Federal Register/Vol. 67, No. 209 (2002): Rules and Regulations
- 7.) Lange, Strathmann und Oßmer (2013). *J. Appl. Microbiol.* 57(6): 547-553
- 8.) ICFMH-WPCM (2012) Reference Strain Catalogue

COLIFORME CHROMOGENER AGAR (ISO)

500 g

8849.1

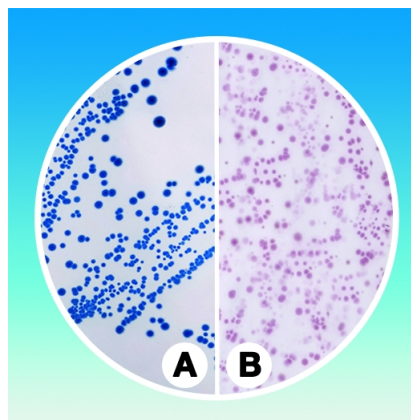
COLIFORMS CHROMOGENIC AGAR (ISO)

For detection and enumeration of *E. coli* and other coliforms in water
Acc. to DIN EN ISO 9308-1

8849

Approximate formulation in g/l:

Sodium chloride (NaCl)	5.0
di-sodium hydrogen phosphate	2.7
Sodium dihydrogen phosphate	2.2
Yeast extract	2.0
Casein, enzymatically digested	1.0
Sodium pyruvate	1.0
Tryptophane	1.0
Sorbitol	1.0
Chromogene mixture	0.4
Sodium heptadecyl sulphate (Tergitol-7)	0.15
Agar	10
pH value	6.8 ± 0.2



A: *E. coli* ATCC 25922 (blue-dark violet)
B: *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 (red-rose)

PREPARATION

Suspend 26.45 g of the medium in one litre of distilled water. Mix well and heat under frequent agitation. Boil for 1 minute until complete dissolution.

Do not overheat! DO NOT AUTOCLAVE!

Let the medium cool to 45 - 50 °C and pour in petri dishes. The prepared medium is amber and should be stored protected from light at 8 - 15 °C.

USES

The Coliforms Chromogenic Agar is recommended by ISO 9308-1 (CCA) as a selective medium for detection of *E. coli* and other coliforms from water and food samples.

The qualitative ingredients enable a fast growth of the colonies, inhibiting the gram positive bacteria by the contained Tergitol 7. The medium also contains tryptophane, enabling the performance of an indol test in order to determine *E. coli*. Coliforms are able to metabolise the chromogenic component salmon-gal by the formation of the enzyme β-D-galactosidase, and therefore grow in red colonies. Since *E. coli* forms additionally the enzyme β-D-glucuronidase, it metabolises the X-glucuronide and the colonies typically grow in dark blue-violet.

The TWVO recommends to filter the sample first using a membrane, and place this membrane on top of the CCA plate. Incubate at 36 ± 2°C for 21 ± 3h.

For evaluating the results, the red colonies are counted first and noted (Coliforms, not *E. coli*). Colourless colonies are classified by an oxidase test as coliform (oxidase negative) or not coliform (oxidase positive).

Then the dark blue-violet colonies are counted and noted as the count of *E. coli*. The whole germ count of coliform germs is the result of all oxidase negative colonies plus all red colonies and plus all dark blue-violet colonies.

Please note: Some strains of *Shigella* are able to form the glucuronidase, too, and hence grow in light blue colonies. The strains of *E. coli* that do not form glucuronidase, grow in colourless colonies, e.g. *E. coli* O157:H7.

MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the given medium from type cultures after incubation at a temperature of 36 ± 2 °C and observed after 21 ± 3 hours.

Microorganisms	Growth	Colony colour
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Good	Blue-dark violet
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Good	Blue-dark violet
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Good	Red-rose
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	Good	Colourless
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibited	---

Acc. to:

- 1.) DIN EN ISO 9308-1:2014-12 Wasserbeschaffenheit
- 2.) DIN EN ISO 7218:2014-09
- 3.) Byamukama et al (2000). *J. Appl Environ Microbiol.* 66(2): 864-868
- 4.) Geissler et al (2000). *J. Appl. Microbiol.* 88 : 280 - 285
- 5.) Ossmer et al (1999) Poster Presentation Congreso de la Sociedad, Espanola de Microbiologia, Granada, Spain.
- 6.) USEPA: 40 CFR Part 141: Federal Register/Vol. 67, No. 209 (2002): Rules and Regulations
- 7.) Lange, Strathmann und Oßmer (2013). *J. Appl. Microbiol.* 57(6): 547-553
- 8.) ICFMH-WPCM (2012) Reference Strain Catalogue

COLIFORMS CHROMOGENIC AGAR (ISO)

500 g

8849.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 _ 76185 Karlsruhe
Postfach 100121 _ 7623 Karlsruhe
Telefon: +49 (0) 721/5606-0 _ Telefax: +49 (0) 721/5606-149
E-Mail: info@carlroth.de _ Internet: www.carlroth.de

s.f. 06/2016