

LACTOSE-TTC-AGAR MIT NATRIUM-HEPTADECYLSULFAT (BASIS)

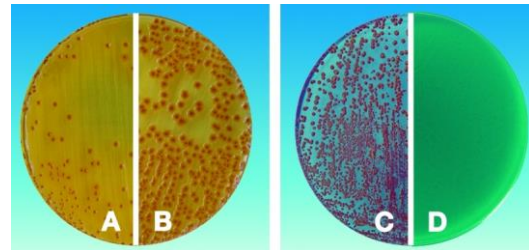
Zur Identifizierung und Zählung coliformer Bakterien aus Wasserproben durch die Membranfiltrationsmethode

CP65 DEV / für die Mikrobiologie

Zusammensetzung in g/l:

Lactose	20,0
Pepton (Fleischpepton).....	10,0
Hefeextrakt	6,0
Fleischextrakt (Rindfleisch).....	5,0
Bromthymolblau	0,05
Natriumheptadecylsulfat (Tergitol 7)	0,1
Agar	15,0
pH-Wert	7,2±0,1

Abbildung: A) *E. coli* ATCC 25922 B) *Klebsiella* spp. C) nicht-Lactose-fermentierende Spezies (*Salmonella*) D) nicht-inoculierter Lactose-TTC-Agar



HERSTELLUNG (EN ISO 9308-1:2000 – B.1)

56,2 g des Mediums werden in 1 l destilliertem Wasser suspendiert. Zum Lösen unter Rühren erhitzen und kurz aufkochen lassen. In 200 ml Aliquots abfüllen und für 15 Minuten im Autoklaven bei 121°C sterilisieren. Auf ca. 50 °C abkühlen lassen und je 0,5 ml 1 %ige, sterile TTC-Lösung zugeben (CP72.1, ein Röhrchen (50 mg) rekonstituiert in 5 ml sterilem, destilliertem Wasser). Vorsichtig mischen und in Petrischalen gießen, so dass eine etwa 5 mm dicke Agarschicht entsteht. Erstarren lassen. Die Petrischalen müssen bei 3-5 °C aufbewahrt und innerhalb von 7 Tagen verbraucht werden. Nach längeren Lagerzeiten findet im Randbereich keine Farbreaktion mehr statt.

EINSATZGEBIET

Lactose-TTC-Agar mit Natriumheptadecylsulfat wird vorgegeben von der Europäischen ISO Norm 9308-1:2000 zur Untersuchung von Wasserproben auf die Anwesenheit von Lactose-fermentierenden Bakterien auf Membranfilterplatten. Dieser Nachweis ist der erste Schritt zur Identifizierung coliformer Bakterien. Die Wasserproben werden durch sterile Membranfilter (Zelluloseester, 0,45 µm, Best. Nr. CY49.1) filtriert und die Filter auf Lactose-TTC-Agar mit Natriumheptadecylsulfat inkubiert.

Natriumheptadecylsulfat (Tergitol 7) inhibiert Gram-positive Bakterien und die Ausbreitung von *Proteus*. Nach Bebrütung werden die Kolonien auf Pigmentbildung analysiert.

Durch Dehydrogenasen der Atmungskette in lebenden Zellen wird das zugegebene TTC zu Formazan reduziert, was alle Bakterienkolonien zunächst rot einfärbt. Lactose-fermentierende Bakterien bilden durch diese Fermentation Säure, die einen pH-Umschwung des Mediums bewirkt und vom pH-Indikator Bromthymolblau durch eine gelbe Farbe des gesamten Mediums und/oder durch einen gelben Hof um die Kolonien angezeigt wird, coliforme Bakterienkolonien (z. B. *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*) sind gelb oder orange gefärbt. Nicht-Lactose-fermentierende (β -Galactosidase-negative) Bakterien (z.B. *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*) bleiben dunkelrot auf blauem Medium. Alle gelben oder orange-roten Kolonien mit gelbem Hof sollten zur Bestätigung auf Trypton-Soja-Agar (Best. Nr. CP70.1) und Tryptophan-Bouillon (Best. Nr. CP71.1) subkultiviert werden.

Coliforme Bakterien sind Gram-negative, stäbchenförmige Bakterien, die keine taxonomische Gruppe darstellen, sondern durch die Eigenschaft charakterisiert sind, aus Lactose unter Säure und Gasbildung Energie gewinnen zu können. Sie kommen vor allem im Darm von Warmblütern vor, können allerdings auch einige Zeit außerhalb der natürlichen Umgebung überleben und sind damit bestens geeignet zur Untersuchung von Wasserproben auf fäkale Verunreinigungen. Allerdings leben einige coliforme Bakterien auch im Boden und in Oberflächenwassern, so dass eine entsprechende Verunreinigung von Wasserproben auch auf andere Fehler in der Wasseraufbereitung zurückzuführen sein kann. Die Europäische ISO Norm 9308-1:2000 legt ein Referenzverfahren fest für den Nachweis und die Zählung von coliformen Bakterien in jedem Wasser für den menschlichen Gebrauch. Vorgegeben werden zwei Verfahren – ein Standardtest, der besonders für keimarmes Wasser geeignet ist und ein Schnellverfahren zur kurzfristigen, aber weniger sensitiven Analyse.

MIKROBIOLOGISCHE TESTS

Die folgenden Ergebnisse wurden erzielt nach Inkubation von Referenzstämmen im angegebenen Agar bei einer Temperatur von 35 ± 2 °C und 44 ° für 24-48 Stunden.

Mikroorganismen	44 °C	35 °C	Koloniefarbe	Farbe Medium
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gut	Gut	Gelb mit orangefarb. Zentrum	gelb
<i>Citrobacter</i> spp.	Null	Gut	Gelb mit orangefarb. Zentrum	gelb
<i>Klebsiella</i> spp.	Null	Gut	Rot bis Gelb	gelb
<i>Enterobacter</i> ATCC 13048	Null	Gut	Rot, dunkelgelb oder gelb-grün mit orangefarb. Zentrum	gelb
Nicht lactose-fermentierende Arten	Null	Gut	Helles Violett bis Purpur	blau

Product Data Sheet

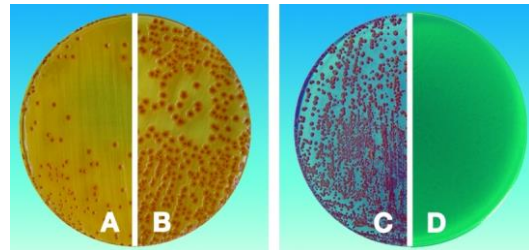
TTC-CHAPMAN-AGAR (WITH SODIUM HEPTADECYLSULPHATE) (BASE)

For isolation and enumeration of coliform bacteria from water samples by the membrane filtration method
CP65 DEV / for Microbiology

Formulation in g/l:

Lactose	20.0
Peptone (ex meat)	10.0
Yeast extract	6.0
Beef extract	5.0
Bromothymol blue	0.05
Sodium heptadecyl sulphate (Tergitol 7)	0.1
Agar	15.0
Final pH	7.2±0.1

Figure: A) *E. coli* ATCC 25922 B) *Klebsiella* spp. C) non-lactose fermenting species (*Salmonella*) D) uninoculated TTC Agar



PREPARATION (EN ISO 9308-1:2000 – B.1)

Suspend 56.2 g of the medium in 1 l distilled water. Solubilise under heating with frequent agitation and boil for few seconds. Pour aliquots of 200 ml each and sterilise for 15 minutes at 121 °C in an autoclave. Let cool to approx. 50 °C and add 0.5 ml each of a sterile, 1 % TTC solution (CP72.1, reconstitute one vial (50 mg) in 5 ml sterile, distilled water). Mix carefully and pour into Petri dishes (at approx. 5 mm thickness). Let cool. The Petri dishes have to be stored in the dark at 3-5 °C. Do not use longer than 7 days. Longer storage result in decreasing colour reaction in the border area.

USES

TTC-Chapman-Agar with Sodium Heptadecyl sulphate is prescribed by European ISO Standard 9308-1:2000 for analyzing water samples to determine the presence of lactose-fermenting bacteria on membrane filter plates. This detection is the first step towards identifying coliform bacteria. The water samples are filtered through sterile membrane filters (cellulose ester, 0.45 µm, Art. No. CY49.1) and the filters incubated on TTC-Chapman-Agar with Sodium Heptadecyl sulphate. Sodium heptadecyl sulphate (Tergitol 7) inhibits Gram positive bacteria and the spreading of *Proteus*. Once incubation is completed, the colonies are analyzed for pigment formation.

Caused by dehydrogenases of the respiratory chain of living cells, the added TTC is reduced to formazane, causing a basic dark-red colouring of all colonies. Lactose-fermenting bacteria produce acids during fermentation which cause a drastic pH change in the medium, indicated by the pH-indicator bromothymol blue as a yellow staining of the entire medium or by a yellow corona around the colonies. Hence, coliform bacterial colonies (e.g. *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*) are stained yellow or orange on yellow medium. Non-lactose fermenting (β-galactosidase-negative) bacteria (e.g. *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*) are stained purple to violet on blue medium. All yellow or orange-red colonies with a yellow corona have to be subcultivated on tryptone soy agar (Art. No. CP70.1) and tryptophan culture broth (Art. No. CP71.1) for species confirmation. Coliform bacteria are Gram negative, bacillary bacteria which do not represent a taxonomic group, but are characterized for being able to produce energy from lactose under acid and aerosis. They are prevalent particularly in the intestines of warm-blooded animals. They can, however, survive for a time outside their natural environment and are therefore extremely suitable for analyzing water samples for faecal contamination. However, some types of coliform bacteria do in fact live in the soil and in surface waters with the result that the respective contamination of the water samples may be ascribed to other errors during treatment of water. European ISO Standard 9308-1:2000 defines reference procedures for the detection and enumeration of coliform bacteria in all types of water meant for human use. Two procedures are given – a standard test which is especially suitable for water low in germs and a quick-test for short term but less sensitive analysis.

MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the given medium from type cultures after incubation at a temperature of 35 ± 2°C and 44°C and observed after 24-48 hours.

Microorganisms	44 ° C	35 ° C	Colony Colour	Medium Colour
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Good	Good	Yellow with orange center	Yellow
<i>Citrobacter</i> spp.	Nil	Good	Yellow with orange Center	Yellow
<i>Klebsiella</i> spp.	Nil	Good	Red to yellow	Yellow
<i>Enterobacter</i> ATCC 13048	Nil	Good	Red, dark yellow or green-yellow with orange center	Yellow
Non lactose-fermenting species	Nil	Good	Light violet to purple	Blue

TTC CHAPMAN AGAR (WITH SODIUM HEPTADECYL SULPHATE) (BASE)

500 g

CP65.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe
Phone: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

sse 06/2021

