



## Chromatic™ Coliform Agar ISO

Chromogenic medium for detection and enumeration of *E. coli* and coliform bacteria in water, according to ISO 9308-1.

### DESCRIPTION

Chromatic™ Coliform Agar ISO is a selective and differential chromogenic medium used for the detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria in water samples with low bacterial background flora, according to ISO 9308-1.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Enzymatic Digest of Casein	1.0
Yeast Extract	2.0
Sodium Chloride	5.0
Sodium Dihydrogen Phosphate	2.2
Di-sodium Hydrogen Phosphate	2.7
Sodium Pyruvate	1.0
Sorbitol	1.0
Tryptophan	1.0
Tergitol® 7	0.15
Salmon®-GAL	0.2
X-Glucuronide	0.1
IPTG	0.1
Agar	15.0
Final pH 6.8 ± 0.2 at 25°C	

### METHOD PRINCIPLE

Enzymatic digest of casein provides amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. Phosphates act as buffer. Sodium pyruvate enhances recovery of injured organisms. Sorbitol is the fermentable carbohydrate. Tryptophan is incorporated into the medium to make possible performing indole test for confirmation of *E. coli*. Tergitol® 7 (sodium heptadecylsulfate) is a surfactant that inhibits Gram-positive bacteria. Salmon®-GAL (6-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-galactopyranoside) is the substrate of  $\beta$ -D-galactosidase, an enzyme typically found in coliform bacteria. X-Glucuronide (5-bromo-4-chloro-3-indoxyl- $\beta$ -D-glucuronide) is the other chromogenic substrate cleaved by the  $\beta$ -D-glucuronidase enzyme characteristic of *E. coli*. The combination of these two substrates allows to differentiate *E. coli* from other coliforms and Gram-negative bacteria on the basis of the color of the colonies. IPTG (isopropyl- $\beta$ -D-thiogalactopyranoside) is an inducer for the expression of  $\beta$ -D-galactosidase. Agar is the solidifying agent.

### PREPARATION

Medium in bottles Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes.

### TEST PROCEDURE

ISO 9308-1 recommends to filter the water sample through a filter membrane (0.45  $\mu$ m pore diameter), transfer the membrane onto a Chromatic™ Coliform Agar ISO plate and incubate aerobically at 36 ± 2°C for 18-24 hours.

Alternatively, samples can be inoculated by spread plating, pour plating or by direct streaking on the medium surface. RODAC plates are used for surface sampling by firmly pressing the agar medium against the test area.

### INTERPRETING RESULTS

After incubation observe the color of the colonies and interpret the results as indicated in the ID table.

#### ID Table.

Microorganism	Typical colony color
$\beta$ -D-galactosidase- and $\beta$ -glucuronidase-positive <i>E. coli</i> *	Dark-blue to violet
Other coliform bacteria**	Pink to red
Other bacteria (if not inhibited)	Colorless

\* $\beta$ -glucuronidase-negative *E. coli* strains, such as *E. coli* O157, are pink to red on this medium.

A few strains of *Shigella* and *Salmonella* which produce the enzyme  $\beta$ -glucuronidase can grow as light blue colonies.

\*\*Carry out an oxidase test (ref. 88029) to confirm coliform bacteria which are oxidase-negative.

See pictures in Appendix I.

### APPEARANCE OF THE MEDIUM

Slightly opalescent, light amber.

**STORAGE**

Store at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

**SHELF LIFE**

Medium in bottles: 1 year.  
Ready-to-use plates: 4 months.

**QUALITY CONTROL**

Plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 50-100 CFU

Inoculum for selectivity: 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU

Inoculum for specificity: 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> CFU

Incubation conditions: aerobically at 36 ± 2°C for 18-24 hours.

**QC Table.**

Microorganism		Growth	Specification
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Good	Dark-blue to violet colonies
<i>Enterobacter aerogenes</i>	WDCM 00175	Good	Pink to red colonies
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	Inhibited	---
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00024	Good	Colorless colonies

**WARNING AND PRECAUTIONS**

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for professional use only and must be used by properly trained operators.

**DISPOSAL OF WASTE**

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

**BIBLIOGRAPHY**

- ISO 9308-1:2014. Water quality – Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria – Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora.
- Quantitative determination of *Escherichia coli* in water using CHROMagar *E.coli*. Jose L.Alonso et al. Journal of Microbiological Methods, 25, 1996, p.309-315.

**PRESENTATION**

		Contents	Ref.
Chromatic™ Coliform Agar ISO	90 mm ready-to-use plates	20 plates	11630
Chromatic™ Coliform Agar ISO	60 mm ready-to-use plates	20 plates	163852
Chromatic™ Coliform Agar ISO	60 mm ready-to-use plates	450 plates	173852
Chromatic™ Coliform Agar ISO	RODAC plates	20 plates	15346
Chromatic™ Coliform Agar ISO	Bottles	6 x 100 ml bottles	481190

**TABLE OF SYMBOLS**

<b>LOT</b> Batch code	 Keep away from sunlight	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
<b>REF</b> Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net



## Chromatic™ Coliform Agar ISO

Terreno cromogenico per la ricerca ed il conteggio di *E. coli* e batteri coliformi nell'acqua, secondo ISO 9308-1.

### DESCRIZIONE

Chromatic™ Coliform Agar ISO è un terreno cromogenico selettivo e differenziale utilizzato per la ricerca ed il conteggio di *Escherichia coli* e batteri coliformi in campioni di acqua con bassa contaminazione microbica, secondo ISO 9308-1.

### FORMULA TIPICA

	(g/l)
Digerito Enzimatico di Caseina	1.0
Estratto di Lievito	2.0
Sodio Cloruro	5.0
Sodio Fosfato Monobasico	2.2
Sodio Fosfato Bibasico	2.7
Sodio Piruvato	1.0
Sorbitolo	1.0
Triptofano	1.0
Tergitol® 7	0.15
Salmon®-GAL	0.2
X-Glucuronide	0.1
IPTG	0.1
Agar	15.0
pH Finale 6.8 ± 0.2 a 25°C	

### PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito enzimatico di caseina fornisce aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo-B. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. I fosfati agiscono come tampone. Il sodio piruvato aumenta il recupero delle cellule danneggiate. Il sorbitolo è il carboidrato fermentabile. Il triptofano è incluso nel terreno per poter effettuare il test dell'indolo per la conferma di *E. coli*. Tergitol® 7 (sodio eptadecilsolfato) è un surfattante che inibisce i batteri Gram positivi. Salmon®-GAL (6-cloro-3-indolil-β-D-galattopiranoside) è il substrato della β-D-galattosidasi, un enzima presente tipicamente nei batteri coliformi. X-Glucuronide (5-bromo-4-cloro-3-indoxil-β-D-glucuronide) è l'altro substrato cromogenico scisso dall'enzima β-D-glucuronidasi caratteristico di *E. coli*. La combinazione di questi due substrati permette di differenziare *E. coli* da altri coliformi a batteri Gram negativi sulla base del colore delle colonie. IPTG (isopropil-β-D-tiogalattopiranoside) è un induttore dell'espressione della β-D-galattosidasi. L'agar è l'agente solidificante.

### PREPARAZIONE

Terreno in flaconi Sciogliere il contenuto di una flacone in bagnomaria a 100°C (con i tappi leggermente svitati) fino a completa dissoluzione del terreno. Verificare, una volta fuso, la buona omogeneità del terreno capovolgendo la flacone dopo averne avvitato il tappo. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene senza formazione di bolle. Versare in piastre Petri in condizioni di asepsi.

### PROCEDURA DEL TEST

ISO 9308-1 raccomanda di filtrare il campione d'acqua attraverso una membrana (pori con diametro di 0.45 μm), trasferire la membrana su una piastra di Chromatic™ Coliform Agar ISO ed incubare a 36 ± 2°C per 18-24 ore in atmosfera aerobica.

In alternativa, i campioni possono essere inoculati per spatolamento, inclusione o direttamente strisciando sulla superficie del terreno. Per il campionamento delle superfici, possono essere utilizzate anche le piastre RODAC, premendo l'agar in maniera decisa contro la superficie da esaminare.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione osservare il colore delle colonie ed interpretare i risultati come indicato nella Tabella ID.

#### Tabella ID.

Microrganismo	Colore Colonie Tipiche
<i>E. coli</i> β-D-galattosidasi- e β-glucuronidasi-positiv*	Da blu scuro a viola
Altri batteri coliformi**	Da rosa a rosso
Altri batteri (se non inibiti)	Incolore

\*Ceppi di *E. coli* β-glucuronidasi negativi, come *E. coli* O157, assumono un colore da rosa a rosso su questo terreno.

Alcuni ceppi di *Shigella* e *Salmonella* che producono l'enzima β-glucuronidasi possono sviluppare colonie blu chiaro.

\*\*Eseguire il test dell'ossidasi (ref. 88029) per confermare i batteri coliformi che sono ossidasi negativi.

**Consultare le foto nell'Appendice I.**

### ASPETTO DEL TERRENO

Ambra chiaro, leggermente opalescente.

**CONSERVAZIONE**

Conservare a 2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

**DURATA**

Terreno in flaconi: 1 anno.  
Piastrer pronte all'uso: 4 mesi.

**CONTROLLO DI QUALITÀ**

Le piastrer vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: 50-100 UFC.

Inoculo per selettività: 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> UFC.

Inoculo per specificità: 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> 0 UFC.

Condizioni di incubazione: ambiente aerobico a 36 ± 2°C per 18-24 ore.

**Tabella CQ.**

Microrganismo		Crescita	Specifiche
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Buona	Colonie da blu scuro a viola
<i>Enterobacter aerogenes</i>	WDCM 00175	Buona	Colonie da rosa a rosso
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	Inibita	---
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00024	Buona	Colonie incolori

**AVVERTENZE E PRECAUZIONI**

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per in ambito professionale e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

**SMALTIMENTO DEI RIFIUTI**

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

**BIBLIOGRAFIA**

- ISO 9308-1:2014. Water quality – Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria – Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora.
- Quantitative determination of *Escherichia coli* in water using CHROMagar *E.coli*. Jose L.Alonso et al. Journal of Microbiological Methods, 25, 1996, p.309-315.

**PRESENTAZIONE**

		Contenuto	Ref.
Chromatic™ Coliform Agar ISO	Piastrer da 90 mm pronte all'uso	20 piastrer	11630
Chromatic™ Coliform Agar ISO	Piastrer da 60 mm pronte all'uso	20 piastrer	163852
Chromatic™ Coliform Agar ISO	Piastrer da 60 mm pronte all'uso	450 piastrer	173852
Chromatic™ Coliform Agar ISO	Piastrer RODAC da 55 mm pronte all'uso	20 piastrer	15346
Chromatic™ Coliform Agar ISO	Flaconi	Flaconi 6 x 100 ml	481190

**TABELLA DEI SIMBOLI**

<b>LOT</b>	Codice del lotto	 Tenere al riparo dalla luce	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
<b>REF</b>	Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare



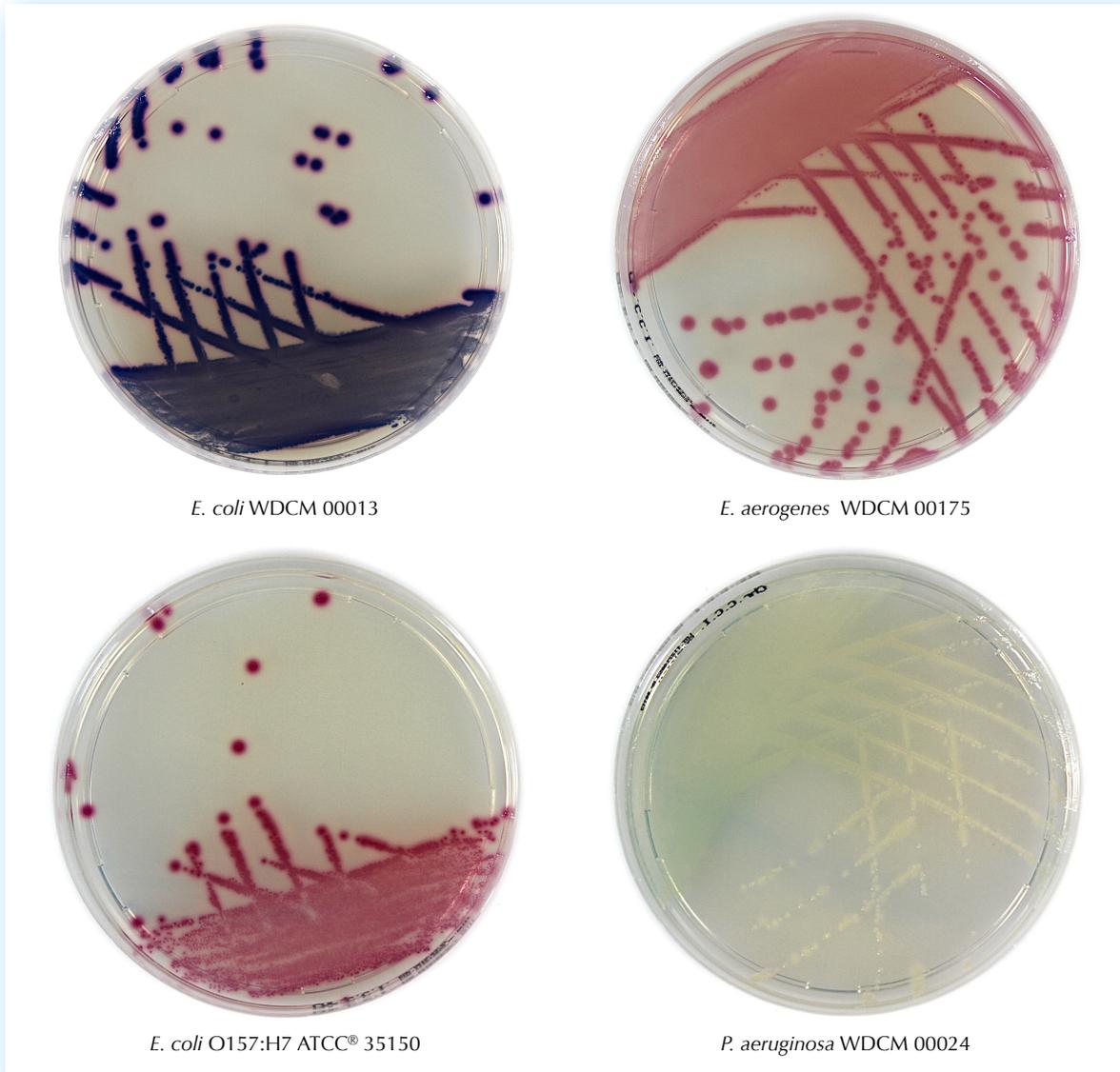
**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net



# Chromatic™ Coliform Agar ISO

Chromogenic medium for detection and enumeration of *E. coli* and coliform bacteria in water, according to ISO 9308-1.



*E. coli* WDCM 00013

*E. aerogenes* WDCM 00175

*E. coli* O157:H7 ATCC® 35150

*P. aeruginosa* WDCM 00024



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net