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 25ºC, 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 121ºC. 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. 06-140LYO1) en 500 mL de medio fundido y enfriado a 45 -50ºC.

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-b-D-galactopiranósido y el 5-bromo-4-cloro-3-indolil-b-D-glucurónido. La primera de ellas es selectivamente degradada por un enzima característico de los coliformes, la b-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 b-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. 06-140LYO1)
Composición por vial:
Cantidad necesaria para 500 mL de medio completo.

Cefsulodina	2,50 mg
Vancomicina	2,50 mg

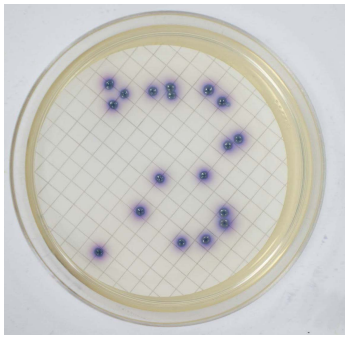
Agua destilada (Disolvente)

Control de calidad

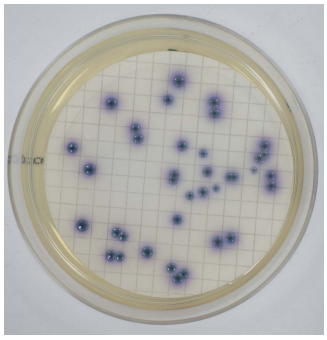
Temperatura de incubación: 36ºC ±2.0 **Tiempo de incubación :** 18-24 h

Inóculo: Rango práctico 100 ± 20 UFC ; Min. 50 UFC (Productividad) / 10^4-10^6 UFC (Selectividad) / 10^3-10^4 UFC (Especificidad) según UNE-EN ISO 11133:2014. Método MF.

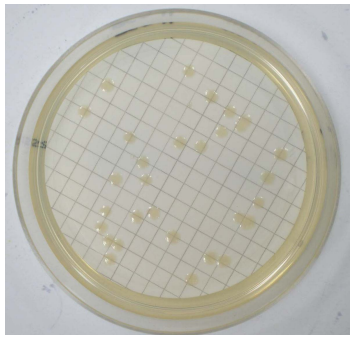
Microorganismo	Crecimiento	Observaciones
Escherichia coli ATCC® 25922	Productividad > 0.70	Colonias: Azul violácias
Escherichia coli ATCC® 8739	Productividad > 0.70	Colonias: Azul violácias
Salmonella enterica ATCC® 13076	Productividad > 0.70	Colonias: Incoloras
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 10145	Bueno (Especificidad)	Colonias: Incoloras
C.freundii ATCC® 43864	Productividad > 0.70	Colonias: Salmon a rojizas
Enterococcus faecalis ATCC® 19433	Inhibido	con Suplemento Selectivo



Escherichia coli ATCC 25922



Escherichia coli ATCC 8739



Salmonella enterica ATCC 13076

Bibliografia

· ADAMS, M., R.GRUBB, S.M. HAMER & A. CLIFFORD (1990) Colorimetric enumeration of *Escherichia coli* based on ß-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.
. 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.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco y seco (entre 4ºC y 30 ºC).

Disponibilidad