



## Chromatic™ EC X-GLUC Agar

Chromogenic medium for detection and enumeration of *E. coli* in water and foodstuffs.

### DESCRIPTION

Chromatic™ EC X-GLUC Agar is a selective and differential chromogenic medium used for the detection and enumeration of *Escherichia coli* in water samples with the membrane filter technique.

This medium, also known as Chromogenic E.coli Agar, complies with the recommendations of methods in UNICHIM M.U.1185 and APAT CNR IRSA 7030.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Tryptone	20.0
Yeast Extract	5.0
Bile Salts No. 3	1.5
Disodium Hydrogen Phosphate	5.0
Potassium Dihydrogen Phosphate	1.5
Sodium Chloride	5.0
X-Glucuronide	0.06
Tryptophan	1.0
Agar	15.0
Final pH 7.0 ± 0.2 at 25°C	

### METHOD PRINCIPLE

Tryptone provides amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Bile salts inhibit Gram-positive bacteria. Phosphates act as buffer. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. X-Glucuronide (5-bromo-4-chloro-3-indoxyl- $\beta$ -D-glucuronide) is the chromogenic substrate which is cleaved by the  $\beta$ -D-glucuronidase enzyme characteristic of *E. coli*. Tryptophan is incorporated into the medium to make possible performing indole test for confirmation of *E. coli*. Agar is the solidifying agent.

### PREPARATION

<u>Dehydrated medium</u>	Suspend 54 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.
<u>Medium in bottles</u>	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

Filter the water sample through a filter membrane (0.45  $\mu$ m pore diameter). Transfer the membrane onto a plate of Chromatic™ EC X-GLUC Agar. Incubate aerobically at 44 ± 0.5°C for 18-24 hours.

Alternatively, samples can be inoculated by spread plating, pour plating or by direct streaking on the medium surface.

### INTERPRETING RESULTS

Count as *Escherichia coli* all the blue or blue-green colonies showing a positive indole reaction. To evaluate the indole production, transfer some drops of Kovac's Reagent (ref.87001) directly onto the colony and observe the formation of a red color. Express results as CFU per ml, allowing for the dilution factor.

$\beta$ -glucuronidase-negative bacteria, including some *E. coli* strains such as *E. coli* O157, cultivate with colorless colonies on this medium.

### APPEARANCE OF THE MEDIUM

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, beige.

Prepared medium: slightly opalescent, light amber.

**STORAGE**

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and prepared plates 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**

Dehydrated medium: 2 years.  
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 44 ± 0.5°C for 18-24 hours.

**QC Table.**

Microorganism		Growth	Colony Color	Indole Reaction
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Good	Blue-green	+
<i>Salmonella</i> Typhimurium	ATCC® 14028	Good	Colorless	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 19433	Inhibited	---	---

**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**

1. APAT CNR IRSA Manuali e Linee Guida (2003). Metodi analitici per le acque: Metodo 7030 D *Escherichia coli*
2. Bonadonna L. (2001) *Escherichia coli* nelle acque significato sanitario e metodologie di analisi . ISSN:1125-2464.
3. Metodo UNICHIM 1185 (2000) – Acque destinate al consumo umano – Metodo rapido per la ricerca ed enumerazione di *Escherichia coli*.
4. Clesceri L.S., A.E. Greenberg and A.D. Eaton (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater, 20<sup>th</sup> ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
5. Delisle G.J., A. Ley (1989) Rapid detection of *Escherichia coli* in urine samples by a new chromogenic beta-glucuronidase assay. J Clin Microbiol 27:778-9.

**PRESENTATION**

		Contents	Ref.
Chromatic™ EC X-GLUC Agar	60 mm ready-to-use plates	20 plates	163722
Chromatic™ EC X-GLUC Agar	Bottles	6 x 100 ml bottles	481200
Chromatic™ EC X-GLUC Agar	Dehydrated medium	500 g of powder	610602
Chromatic™ EC X-GLUC Agar	Dehydrated medium	100 g of powder	620602

**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™ EC X-GLUC Agar

Terreno cromogenico per ricerca e conteggio di *E. coli* nell'acqua e negli alimenti.

### DESCRIZIONE

Chromatic™ EC X-GLUC Agar è un terreno cromogenico selettivo e differenziale utilizzato per la ricerca ed il conteggio di *Escherichia coli* in campioni di acqua con la tecnica della filtrazione su membrana.

Questo terreno, conosciuto anche come Chromogenic E.coli Agar, è conforme alle raccomandazioni dei metodi descritti in M.U. 1185 e APAT CNR IRSA 7030.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Tryptone	20.0
Estratto di Lievito	5.0
Sali di Bile N. 3	1.5
Sodio Fosfato Bibasico	5.0
Potassio Fosfato Monobasico	1.5
Sodio Cloruro	5.0
X-Glucuronide	0.06
Triptofano	1.0
Agar	15.0
pH Finale 7.0 ± 0.2 a 25°C	

### PRINCIPIO DEL METODO

Il tryptone 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. I sali di bile inibiscono i batteri Gram-positivi. I fosfati agiscono come tampone. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. X-Glucuronide (5-bromo-4-cloro-3-indoxil- $\beta$ -D-glucuronide) è il substrato cromogenico scisso dall'enzima  $\beta$ -D-glucuronidasi caratteristico di *E. coli*. Il triptofano è incluso nel terreno per poter effettuare il test dell'indolo per la conferma di *E. coli*. L'agar è l'agente solidificante.

### PREPARAZIONE

<u>Terreno disidratato</u>	Sospendere 54 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.
<u>Terreno in flaconi</u>	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

Filtrare il campione d'acqua attraverso una membrana (pori con diametro di 0.45  $\mu$ m). Trasferire la membrana su una piastra di Chromatic™ EC X-GLUC Agar. Incubare a 44 ± 0.5°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.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Contare come *Escherichia coli* tutte le colonie blu o blu-verdi che risultano positive al test dell'indolo. Per valutare la produzione di indolo, depositare alcune gocce di Kovac's Reagent (87001) direttamente sulla colonia e osservare lo sviluppo di un colore rosso. Esprimere i risultati come UFC per ml, considerando il fattore di diluizione.

I batteri  $\beta$ -glucuronidasi-negativi, incluso alcuni ceppi di *E. coli* come ad esempio *E. coli* O157, coltivano con colonie incolori su questo terreno.

### ASPETTO DEL TERRENO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige.

Terreno preparato: ambra chiaro, leggermente opalescente.

**CONSERVAZIONE**

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi e le piastre pronte 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.

**VALIDITÀ**

Terreno disidratato: 2 anni.

Terreno in flaconi: 1 anno.

Piastre pronte all'uso: 4 mesi.

**CONTROLLO DI QUALITÀ**

Le piastre 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 44 ± 0.5°C per 18-24 ore.

**Tabella CQ.**

Microrganismo		Crescita	Colore Colonie	Reazione Indolo
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Buona	Bue-verde	+
<i>Salmonella Typhimurium</i>	ATCC® 14028	Buona	Incolore	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 19433	Inibita	---	---

**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**

1. APAT CNR IRSA Manuali e Linee Guida (2003). Metodi analitici per le acque: Metodo 7030 D *Escherichia coli*
2. Bonadonna L. (2001) *Escherichia coli* nelle acque significato sanitario e metodologie di analisi . ISSN:1125-2464.
3. Metodo UNICHIM 1185 (2000) – Acque destinate al consumo umano – Metodo rapido per la ricerca ed enumerazione di *Escherichia coli*.
4. Clesceri L.S., A.E. Greenberg and A.D. Eaton (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater, 20<sup>th</sup> ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
5. Delisle G.J., A. Ley (1989) Rapid detection of *Escherichia coli* in urine samples by a new chromogenic beta-glucuronidase assay. J Clin Microbiol 27:778-9.

**PRESENTAZIONE**

		Contenuto	Ref.
Chromatic™ EC X-GLUC Agar	Piastre da 60 mm pronte all'uso	20 piastre	163722
Chromatic™ EC X-GLUC Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 100 ml	481200
Chromatic™ EC X-GLUC Agar	Terreno disidratato	500 g di polvere	610602
Chromatic™ EC X-GLUC Agar	Terreno disidratato	100 g di polvere	620602

**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