

## CHROMOBKIT CC

REF B0421484

### → USO

Medio cromogénico selectivo utilizado para el recuento, detección y diferenciación simultánea de *Escherichia coli* y bacterias del grupo coliforme en muestras de aguas y alimentos.

### FUNDAMENTO

La detección y recuento de bacterias indicadoras de contaminación es de importancia primaria en el control de calidad de aguas y alimentos.

En los últimos años, se han producido avances importantes en la formulación de los medios de cultivo diferenciales con la aparición de medios cromogénicos.

Estos medios incluyen en su composición sustratos cromogénicos de enzimas específicas bacterianas. Cuando la enzima actúa sobre estos cromógenos, éstos sufren un cambio en su estructura, formándose una nueva estructura molecular coloreada.

Chromobrit CC es un medio de cultivo nutritivo, selectivo y diferencial. La presencia de tripteína, peptona de soya, extracto de levadura y piruvato de sodio favorece el desarrollo de diversos microorganismos, aún de los que sufrieron daño o deterioro por diversos procesos a los que ha sido sometida la muestra a analizar.

El lauril sulfato de sodio inhibe el desarrollo de flora acompañante Gram positiva que pudiera estar presente en la muestra. Por la presencia de los sustratos cromogénicos 5-bromo-4 cloro-3 indolil β-D glucuronido (X-GUD) y 5 bromo-6 cloro-3 indolil β-D galactopiranosido (Magenta GAL) se evidencia mediante el color de las colonias la actividad β-glucuronidasa y β-galactosidasa respectivamente, presente en determinadas especies o grupos microbianos. El isopropil β-D tiogalactopiranosido (IPTG) es el activador de la enzima β-galactosidasa.

La detección de estas actividades enzimáticas, junto con la morfología de la colonia, permite reconocer presuntivamente a *Escherichia coli* y grupo coliforme.

Las colonias de *Escherichia coli* crecen favorablemente y son detectadas por la aparición de un color azul o azul oscuro a violeta en el centro de la colonia, producido por la ruptura del X-glucuronido por acción de la enzima β-glucuronidasa.

Los coliformes totales (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*) crecen y se observan como colonias con centro rosado-rojizo por la ruptura del sustrato Magenta GAL por la acción de la enzima β-galactosidasa.

Las bacterias del grupo que no poseen β glucuronidasa como la *Escherichia coli* O<sub>157</sub>H<sub>7</sub> crecen como colonias con centro rosado-rojizo (ya que sí tienen presente la enzima β galactosidasa como todos los coliformes).

Además, el Chromobrit CC contiene L-triptofano y esto permite realizar la prueba de indol, lo que incrementa el valor presuntivo y la sensibilidad del método para detectar *Escherichia coli* y también la detección de la actividad triptófano deaminasa, presente en miembros de la tribu Proteae.

### CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0421484: 6 frascos x 50 ml y Reactivo Cinamaldehído.

### FÓRMULA

Tripteína	10.0 g
Piruvato de sodio	1.0 g
Peptona de soya	5.0 g
L-triptofano	1.0 g
Lauril sulfato de sodio	0.2 g
Fosfato dipotásico	2.5 g
Extracto de levadura	5.0 g
Agar	15.0 g
X-GUD	0.1 g
Magenta GAL	0.1 g
IPTG	0.1 g
Agua purificada	1000 ml

### pH final: 7,1 ± 0,2

La fórmula puede ser ajustada y/o suplementada para cumplir los criterios de desempeño y aceptación de producto, cumpliendo su uso previsto.

### INSTRUCCIONES

Medio de cultivo listo para usar en frascos

- Colocar los frascos cerrados en baño maría y llevar a ebullición para fundir el medio de cultivo sólido contenido en los mismos.
- Una vez que se ha fundido el medio de cultivo, retirar cuidadosamente los frascos del baño maría y dejar enfriar.
- Cuando alcanzan una temperatura de 45-50 °C, abrirlos y distribuir aproximadamente 15 ml en placas de Petri estériles.

### CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo color ámbar claro.

### ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo listo para usar en frascos: a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado: a 2-8 °C.

### PROCEDIMIENTO

#### Siembra

- Para propósitos generales: estriar directamente sobre la superficie del medio de cultivo.
- Para recuento bacteriano:

En superficie: sembrar hasta 0,1 ml de la muestra directa o de la

dilución apropiada y esparcirla en el medio de cultivo.

En profundidad: inocular hasta 1 ml de la muestra directa o de la dilución. Verter un volumen del medio de cultivo fundido y enfriado a 40-45°C. Homogeneizar mediante movimientos de vaivén y rotación. Dejar solidificar.

### Incubación

En aerobiosis, a 33-37 °C durante 18-48 horas.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Efectuar el recuento de colonias y tener en cuenta la alícuota de muestra sembrada para realizar el cálculo de UFC/ml.

La detección de la actividad enzimática bacteriana, junto con la morfología de la colonia, permite reconocer presuntivamente a:

**Escherichia coli:** colonias azul-violáceas.

β-glucuronidasa: positivo.

β-galactosidasa: positivo.

**Grupo Coliforme:** colonias rosadas-rojizas.

β-glucuronidasa: negativo.

β-galactosidasa: positivo.

**Proteus-Morganella-Providencia:** colonias amarronadas.

Triptofano deaminasa: positivo.

β-glucuronidasa: negativo.

β-galactosidasa: negativo.

Indol positivo: Proteus vulgaris, Morganella spp., Providencia spp.

Indol negativo: Proteus mirabilis.

**Otras bacterias Gram negativas:** colonias incoloras-blancas.

**Staphylococcus spp. y Enterococcus spp:** crecimiento inhibido.

### En caso de realizar la prueba de indol, proceder de la siguiente manera:

- En un papel de filtro agregar una gota del Reactivo Cinamaldehído (p-dimetilaminocinamaldehído).

- Mediante el uso de un ansa estéril tomar la colonia en estudio y depositarla donde se encuentra el reactivo.

- La aparición de un color turquesa-azul, dentro de los treinta segundos, indica la positividad de la prueba.

MICROORGANISMOS	CARACTERÍSTICAS Y COLOR DE LAS COLONIAS	PRUEBA DE INDOL
Escherichia coli ATCC 25922	Colonias con centro azul oscuro a violáceo	+
Escherichia coli ATCC 8739	Colonias con centro azul oscuro a violáceo	+
Escherichia coli O <sub>157</sub> H <sub>7</sub> ATCC 700728	Colonias con centro rosado-rojizo	+
Klebsiella pneumoniae ATCC 700603	Colonias con centro rosado-rojizo	-
Proteus mirabilis ATCC 43071	Colonias blancas - amarronadas	-
Morganella morganii ATCC 25830	Colonias blancas - amarronadas	+
Salmonella typhimurium ATCC 14028	Colonias blancas	-
Salmonella enteritidis ATCC 13076	Colonias blancas	-
Shigella flexneri ATCC 12022	Colonias blancas	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Colonias blancas	----
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Crecimiento inhibido	----
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Crecimiento inhibido	----
CONTROL DE ESTERILIDAD		RESULTADO
MEDIO SIN INOCULAR		Sin Cambios

### LIMITACIONES

- Entre el 95-98 % de las cepas de Escherichia coli presentan la enzima β-glucuronidasa.

- Algunas cepas de Salmonella spp., Shigella spp., Citrobacter freundii y Yersinia sp. presentan la enzima β-glucuronidasa. Con excepción de Escherichia coli β glucuronidasa positivo, es necesario realizar pruebas bioquímicas adicionales para la identificación definitiva del microorganismo hallado.

- Las cepas típicas de Escherichia coli O<sub>157</sub> H<sub>7</sub> no poseen la enzima β glucuronidasa.

### MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

### PRECAUCIONES

- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.

- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.

- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula la muestra y el producto.

- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y

manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.

- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

**REFERENCIAS**

- Manafi M., W Kneifel, and S. Bascomb. 1991. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. Microbiol Rev. 55:335-348.

**INDICACIONES AL CONSUMIDOR**

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.  
 Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

**SÍMBOLOS UTILIZADOS**

 DIAGNÓSTICO IN VITRO	 CÓDIGO N°	 LOTE N°	 ESTÉRIL
 ELABORADOR	 N° DE DETER- MINACIONES	 INSTRUCCIONES DE USO	 FECHA DE VENCIMIENTO
			 LÍMITE DE TEMPERATURA