

## Especificación

Indicador tipo redox de crecimiento microbiano.

## Presentación

10 Viales liofilizados  
Vial  
con:  $6 \pm 0.1$  g

### Enajado

1 caja con 10 viales de vidrio de  $22 \pm 0,25 \times 55 \pm 0,5$  mm, con tapón de plástico. Etiquetados.

### Caducidad Almacenamiento

49 meses 2-8 °C

## Composición

Composición (g/vial)

TTC.....0,05

**Nota:** cantidad suficiente para suplementar 2L de medio Agar Chapman

Reconstituir el vial liofilizado

con la adición :

Agua destilada estéril..... 5 ml

## Descripción/Técnica

### Descripción:

El cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) es un colorante que se utiliza en gran medida para la detección, aislamiento y enumeración de presuntas colonias microbianas como *E. coli* y otros coliformes en medios de cultivo sólidos, mediante la técnica de filtración por membrana en aguas para consumo humano. Además, el uso de TTC es muy recomendable para el análisis de la leche, ya que existe un alto porcentaje de microorganismos que no pueden reducir el TTC en la leche pasteurizada, y que por lo tanto, no pueden ser detectados mediante procedimientos de laboratorio.

Este colorante es incoloro en su forma oxidada y rojo cuando es reducido por microorganismos vivos debido a la formación de formazan, un pigmento rojo insoluble que se mantiene dentro de las células formando gránulos de color rojo. Dependiendo de la concentración de TTC, éste puede tener una inhibición muy pequeña para el crecimiento de microorganismos Gram positivos.

### Técnica:

Reconstituir asepticamente 1 vial en 5 ml de agua destilada estéril. Mezclar suavemente hasta disolverlo por completo y agregar asepticamente 2,5 ml a 1000 ml de Agar Chapman TTC (Cat. 1076), autoclavado y enfriado a 45-50 °C. Mezclar bien y distribuir en recipientes estériles.

Cuando se requiera añadir TTC a otro medio, como el Agar KF Estreptocócico (Cat. 1034) o el Agar KF para Estreptococos con Púrpura de Bromocresol (Cat. 1101), consultar las instrucciones específicas del medio para conocer la cantidad de Suplemento TTC 1% que se deba agregar.

### Instrucciones de uso:

Para la detección y enumeración de *Escherichia coli* y bacterias coliformes en muestras de agua:

- Filtrar dos muestras de agua sobre dos membranas diferentes e incubar en Agar Chapman TTC (Cat. 1076) a  $36 \pm 2$  °C y  $44 \pm 4$  °C respectivamente, durante  $21 \pm 3$  horas.

Las colonias típicas tienen el aspecto siguiente:

- *E. coli* y *Citrobacter spp* presentan colonias amarillas con centro anaranjado.

- *Enterobacter spp* forma colonias de color rojo y amarillo oscuro con centro de color naranja. El medio es amarillo. - *Klebsiella spp* forma colonias de color rojo o amarillo, pero sin centro. El medio es amarillo.

- Bacterias no fermentadoras de lactosa crecen con colonias de color púrpura y cambian el medio a azul.

Las especies *Klebsiella* y *Enterobacter* también pueden producir colonias amarillo-verdes.

Los resultados siempre se referirán a conteos por 100 ml de muestra, considerando si ha sido necesario realizar diluciones.

- Contar como bacterias lactosa positivas las colonias que presentan un desarrollo de color amarillo del medio bajo la membrana.

- Subcultivar las colonias características obtenidas, en agar no selectivo y Caldo de Cultivo Triptófano (Cat. 1237).

- Realizar la prueba de oxidasa e incubar los tubos de Caldo de Cultivo Triptófano a  $44 \pm 0,5$  °C durante  $21 \pm 3$  horas.

- La producción de indol se determina agregando unas gotas de reactivo de Kovac (Cat. 5205) a los tubos de Caldo de Cultivo Triptófano incubados. Una prueba positiva está indicada por el desarrollo de color rojo en la capa de reactivo.

- Las colonias que son oxidasa negativas se considerarán bacterias coliformes y las colonias que son oxidasa negativas e indol positivas se considerarán *E. coli*.

## Control de Calidad

### Control Físico/Químico

Color : Blanco-amarillento

pH: a 25°C

### Control de Fertilidad

Rehidratar 1 vial como se indica en COMPOSITION; agitar y disolver completamente.

Añadir 1 vial a 2L de medio base. NO CALENTAR una vez suplementado.

Distribuir el medio completo, una vez enfriado a 50 °C, en placas de filtración.

Filtración con membrana /rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (Productividad). /10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> UFC para Selectividad.

Aerobiosis. Incubación a 36 ± 2 °C, lecturas 21±3 h

### Microorganismo

*Enterococcus faecalis* ATCC® 19433, WDCM 00009*Escherichia coli* ATCC® 25922, WDCM 00013*Ps. aeruginosa* ATCC® 27853, WDCM 00025*E. coli* NCTC® 13167, WDCM 00179

### Desarrollo

Inhibido

Bueno (≥ 70%) Colonias amarillo-naranja debajo MF.

Bueno - Colonias rojas con centro azul.

Bueno (≥ 70%) Colonias amarillo-naranja debajo MF.

### Control de Esterilidad

Incubación 48 horas a 30-35 °C y 48 horas a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO

## Bibliografía

Kennor, G.A., Clark, H.F. and Kabler, P.W. (1961) J. Appl. Microbiol. 9: 15-20. Slanetz, L.W. and Bartley, C.H. (1957) J. Bact. 74: 591-595.

Chapman, G.H. (1947) J. Bact. 53: 504.

Nordic Committee on Food Analysis (1968) Leaflet 68.22/01/202022/01/2020