

# Caldo de Cultivo Triptófano ISO

Cat. 1237

 Para la detección de *Escherichia coli* y otros coliformes por indol

## Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Detección	Coliformes
Detección	<i>Escherichia coli</i>
Industria: Cultivo general	
Regulaciones: ISO 16654	



## Principios y usos

Caldo de Cultivo Triptófano se usa para la prueba rápida y estándar para la detección de *E. coli* y otros coliformes por producción de indol. La formación de indol depende exclusivamente del desarrollo de bacterias que producen enzimas llamadas triptofanasas, que oxidan el aminoácido esencial L-triptófano produciendo indol, escatol (metil indol) y acetato de indol. Varios géneros de bacterias tienen especies que son indol positivas, en particular *Proteus*, *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Bacillus*, etc.

La triptona proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico. No hay carbohidratos fermentables en el medio que permitan la buena síntesis de triptofanasa y, por tanto, la producción de indol.

## Fórmula en g/L

Digerido pancreático de caseína	10	Cloruro sódico	5
L-Triptófano	1		

## Preparación

Suspender 16 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor agitación frecuente. Hervir durante un minuto. Distribuir en tubos con 3 ml en cada y esterilizar a 121 °C durante 15 minutos.

## Instrucciones de uso

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

- Filtrar un volumen apropiado de muestra a través de la membrana.
- Colocar la membrana sobre la superficie de una placa de TTC Chapman Agar (Cat. 1076), evitando la formación de burbujas de aire.
- Invertir las placas e incubar a 36±2 °C durante 21±3 horas.
- 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±0,5 °C durante 21±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*.

Para la detección de *Escherichia coli* O157 según ISO 16654:

- Preparar la suspensión inicial agregando la porción de prueba al Caldo Soja Trypticaseína Modificado con Novobiocina (Cat. 1292) precalentado a 41,5 °C para obtener una proporción de 1/10.
- Incubar durante 6 horas y luego otras 12 a 18 horas a 41,5 °C.

- Separar y concentrar los microorganismos mediante partículas inmunogénicas recubiertas con anticuerpos a E. coli O157.
- Subcultivar las partículas inmunomagnéticas con las bacterias adheridas en Agar MacConkey con Sorbitol (Cat. 1099) y un segundo agar de aislamiento selectivo elegido por el laboratorio. La temperatura óptima de incubación para E. coli O157 es de  $37 \pm 1$  ° C durante 18-24 horas.
- Confirmar mediante la producción de indol en Caldo de Cultivo Triptófano (Cat. 1237) y aglutinación con el suero anti E. coli O157.

## Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Ámbar, ligeramente opalescente	$7,5 \pm 0,1$

## Test microbiológico

Condiciones de incubación: ( $44 \pm 5$  °C /  $21 \pm 3$  h)

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Klebsiella pneumoniae ATCC 13833	Buen crecimiento	Indol (-)
Escherichia coli ATCC 25922	Buen crecimiento	Indol (+)

## Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C  
Temp. Max.: 25 °C

## Bibliografía

ISO 9308-1. Water quality-Detection and enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria. Part 1: Membrane filtration method  
ISO 16654:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of Escherichia coli O157