

Stručni članak | Professional paper | UDK 556.115:578.84

578.84:556.115

Primljeno (Received): 16. 9. 2009. | Prihvaćeno (Accepted): 20. 1. 2010.

# POGODNOST KOMERCIJALNIH KRUTIH HRANJIVIH PODLOGA ZA KULTIVACIJU UKUPNIH KOLIFORMNIH BAKTERIJA IZ POVRŠINSKIH VODA

Doc. dr. sc.

Jasna Hrenović, dipl. ing. biol.

Prirodoslovno-matematički fakultet  
Sveučilišta u Zagrebu

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb  
jasnah@zg.biol.pmf.hr

Senka Šimunović, prof. biol. i kem.

Prirodoslovno-matematički fakultet  
Sveučilišta u Zagrebu

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb

U ovom radu ispitana je pogodnost četiriju komercijalnih selektivnih i diferencijalnih krutih hranjivih podloga (EC X-Gluc, Endo, Mac Conkey i m-Faecal Coliform agar) proizvođača Biolife za kultivaciju ukupnih koliformnih bakterija iz uzoraka površinskih voda. Određeni broj ukupnih koliformnih bakterija i postotni udio bakterije *Escherichia coli* u populaciji ukupnih koliforma u istom uzorku bio je značajno različit na različitim hranjivim podlogama. U 6 od 19 ispitivanih uzoraka vode varijacija određenog broja ukupnih koliformnih bakterija rezultirala je različitom interpretacijom kvalitete vode. Kod izbora komercijalno dostupne hranjive podloge za uzgoj ukupnih koliformnih bakterija potrebno je dobro analizirati sve pozitivne i negativne strane pojedine hranjive podloge. EC X-Gluc agar je prema svom kvalitativnom sastavu visoko selektivna i diferencijalna kromogena podloga koja se može preporučiti za uzgoj koliformnih bakterija u odnosu na preostale tri podloge čija je primjenjivost ispitivana u ovom istraživanju.

## Ključne riječi:

hranjive podloge, kultivacija, površinske vode, ukupne koliformne bakterije

## 1. UVOD

### 1.1. Značaj koliformnih bakterija

Koliformne bakterije su primarno nepatogene bakterije koje normalno obitavaju u donjem intestinalnom traktu (debelom crijevu) čovjeka i toplokrvnih životinja. Štite crijevo od infekcija patogenim bakterijama te osiguravaju pravilnu probavu hrane i sintezu vitamina grupe B (Bitton, 2005.). Koliformne bakterije se izlučuju fekalijama iz organizma, dospijevaju u komunalne otpadne vode, a preko otpadnih voda i u prirodne vode. U jednom gramu ljudskog fecesa nalazi se od  $10^6$  do  $10^9$  koliformnih bakterija. Koncentracija koliformnih bakterija u kućanskim otpadnim vodama kreće se od  $10^{11}$  do  $10^{13}$  u 100 mL otpadne vode (Henze i sur., 2008.). Ukoliko fekalije potječe iz oboljelog čovjeka ili životinje, u njima će biti prisutne i patogene bakterije, koje uzrokuju crijevne infekcije i teška oboljenja, poznata kao hidričke infekcije (prenose se vodom). Od patogenih bakterija mogu biti prisutni uzročnici: kolere (*Vibrio cholerae*), tifusa (*Salmonella typhi*), salmoneloza (*Salmonella* sp.), dizenterije (*Shigella dysenteriae*), gastroenteritisa (*Campylobacter jejuni*) i dr. Mnoge patogene bakterije prisutne su u okolišu u niskim brojčanim vrijednostima te je njihova detekcija teška (Henze i sur., 2008.). Zbog navedenog, koliformne se bakterije koriste u sanitarnoj analizi vode od 1912. godine kao indikatori fekalnog zagađenja i moguće prisutnosti patogenih crijevnih bakterija.

Koliformne bakterije su fakultativno anaerobne, Gram-negativne, štapićaste, nesporogene bakterije koje fermentiraju laktozu stvarajući kiselinu i plin. Uključuju vrstu *Escherichia coli* i srodne vrste, koje normalno obitavaju u debelom crijevu, kao što su vrste rodova *Citrobacter*, *Enterobacter* i *Klebsiella* (Holt i sur., 1994.). Koliformne bakterije se prema otpornosti na temperaturu dijele na ukupne i fekalne koliformne bakterije. Ukupne koliformne bakterije fermentiraju laktozu na  $35 \pm 0,5$  °C kroz 48 h, a fekalne koliformne bakterije na  $44,5 \pm 0,2$  °C kroz 24 h. Smatra se da nalaz termotolerantnih fekalnih koliforma ukazuje sa sigurnošću na svježa fekalna zagađenja sredine. Ukupni koliformi izgubili su boraveći u vanjskoj sredini sposobnost tolerancije temperature od 44,5 °C i znak su starijih fekalnih zagađenja (Stilinović i Hrenović, 2009.).

### 1.2. Kultivacija koliformnih bakterija

Koliformne bakterije se relativno brzo i lako dokazuju u laboratoriju klasičnim metodama kultivacije. Kultivacija ovih bakterija podrazumijeva uzgoj na krutim ili u tekućim selektivnim hranjivim podlogama. Uzgoj na krutim hranjivim podlogama ima više prednosti nad uzgojem u tekućim podlogama. Na krutim hranjivim podlogama moguće je točnije odrediti broj vijabilnih bakterija kao broj jedinica koje formiraju kolonije (engl. Colony Forming Units, CFU) i brže odrediti udio *E. coli* u uzorku. U ovom radu istraživan je uzgoj koliformnih



Slika 1: Plave kolonije *Escherichia coli* i žučkaste kolonije ostalih koliformnih bakterija porasle na EC X-Gluc agaru.

Tablica 1: Sastav EC X-Gluc agaru.

Tripton	20,0 g
Ekstrakt kvasca	5,0 g
NaCl	5,0 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5,0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,5 g
Triptofan	1,0 g
X-GLUC	0,06 g
Žučne soli	1,5 g
Agar	12,0 g
Destilirana voda	1000 mL
pH = 7,0 ± 0,2	



Slika 2: Kolonije *Escherichia coli* zlatno-metalnog sjaja i ružičaste kolonije ostalih koliformnih bakterija porasle na Endo agaru.

Tablica 2: Sastav Endo agaru.

Tripton	10,0 g
Laktoza	10,0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,5 g
Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	2,5 g
Bazični fuksin	0,4 g
Agar	15,0 g
Destilirana voda	1000 mL
pH = 7,5 ± 0,2	

bakterija na četiri komercijalne krute hranjive podloge.

EC X-Gluc agar je visoko selektivna i diferencijalna kromogena podloga za uzgoj koliformnih bakterija (tablica 1). Rast Gram-pozitivnih bakterija je inhibiran žučnim solima u sastavu podloge. Podloga sadrži X-GLUC (5-bromo-4-kloro-3-indolil β-D-glukuronid) za dokazivanje prisutnosti enzima β-glukuronidaze. Od koliformnih bakterija samo *E. coli* (i neki sojevi *Salmonella* i *Shigella*) posjeduju β-glukuronidazu te mogu razgraditi X-Gluc do plavo obojenih produkata. Stoga su porasle kolonije *E. coli* plave boje, a kolonije drugih koliformnih bakterija (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*) bijele do žučkaste boje (slika 1). Zbog prisutnosti triptofana u podlozi direktno se mogu dokazati indol-pozitivne kolonije *E. coli* razvijene na ploči. Dodatkom par kapi Kovaczsevog reagensa za dokazivanje indola na bakterijske kolonije, oko indol-pozitivnih kolonija *E. coli* stvoriti se tamnocrveni prsten, što ih razlikuje od eventualno poraslih plavih kolonija iz roda *Salmonella* i *Shigella*.

Endo agar je selektivna i diferencijalna podloga za uzgoj koliformnih bakterija (tablica 2). Na-sulfit i bazični (dijamant) fuksin u podlozi inhibiraju rast Gram-pozitivnih bakterija. Bakterije koje intenzivno fermentiraju laktozu kao međuproduct stvaraju acetaldehid koji se fiksira pomoću Na-sulfita, a reakcija s bazičnim fuksinom daje metalni sjaj zbog reduciranih fuksina. Stoga su na Endo agaru kolonije *E. coli* zlatno-metalnog sjaja, a kolonije drugih koliformnih bakterija različite nijanse ružičaste boje (slika 2).

Mac Conkey agar je selektivna i diferencijalna podloga koja omogućava rast koliformnih bakterija, a rast Gram-pozitivnih bakterija inhibiran je žučnim solima i kristal



Slika 3: Crvene kolonije *Escherichia coli* i ružičaste kolonije ostalih koliformnih bakterija porasle na Mac Conkey agaru.

Tablica 3: Sastav Mac Conkey agaru.

Pankreasni digest želatine	17,0 g
Peptokompleks	3,0 g
Laktoza	10,0 g
Žučne soli	1,5 g
NaCl	5,0 g
Neutralno crvenilo	0,03 g
Kristal violet	0,001 g
Agar	13,5 g
Destilirana voda	1000 mL
pH = 7,1 ± 0,2	



Slika 4: Plave kolonije *Escherichia coli* i sive kolonije ostalih koliformnih bakterija porasle na m-Faecal Coliform agaru.

Tablica 4: Sastav m-Faecal Coliform agaru.

Triptosa	10,0 g
Peptokompleks	5,0 g
Ekstrakt kvasca	3,0 g
NaCl	5,0 g
Laktoza	12,5 g
Žučne soli	1,5 g
Anilin plavo	0,1 g
Agar	13,0 g
Rozalična kiselina	1,0 g
Destilirana voda	1000 mL
pH = 7,4 ± 0,2	

violetom (tablica 3). Kao izvor ugljikohidrata nalazi se lakoza, a fermentacija lakoze uzrokuje zakiseljavanje medija s popratnom precipitacijom žučnih soli i apsorpcijom neutralnog crvenila. Kolonije *E. coli* rastu kao kolonije crvene boje s crvenom zonom precipitacije, a kolonije drugih koliformnih bakterija su ružičaste boje (slika 3). Eventualno porasle kolonije bakterija roda *Salmonella* i *Shigella* su prozirne.

m-Faecal Coliform agar je selektivna i diferencijalna podloga za izolaciju koliformnih bakterija, a rast Gram-pozitivnih

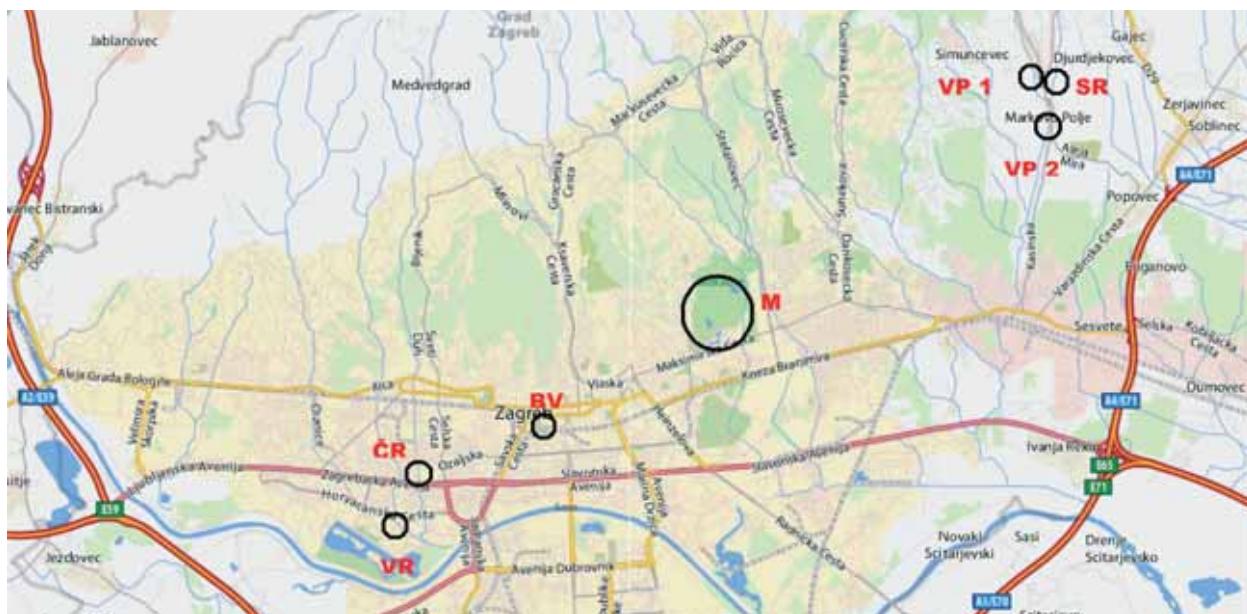
bakterija inhibiran je žučnim solima (tablica 4). Kolonije *E. coli* rastu kao kolonije plave boje, a kolonije drugih koliformnih bakterija su sive boje (slika 4).

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi pogodnost opisane četiri komercijalne krute hranjive podloge za uzgoj/kultivaciju ukupnih koliformnih bakterija iz uzorka površinskih voda.

## 2. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA, MATERIJALI I METODE

Uzorci površinskih voda prikupljeni su tijekom ožujka 2009. na 19 postaja na području grada Zagreba (slika 5 i 6). Oznake uzorka su prikazane u tablici 5.

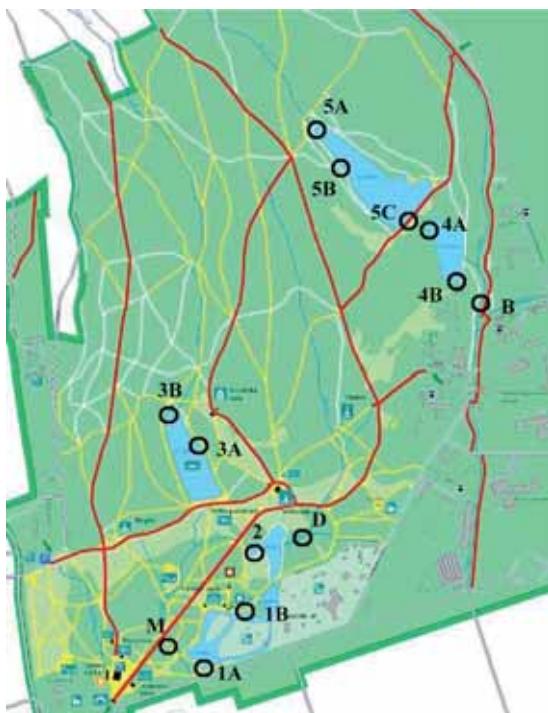
Uzorci vode bili su sakupljeni u sterilne Winklerove boce te pohranjeni u prijenosnom hladnjaku i preneseni u laboratorij u najkraćem mogućem roku. Bakteriološka analiza izvršena je najduže dva sata nakon uzrokovanja. Svaki uzorak vode je nakon homogeniziranja razrijeđen u 0,3% NaCl metodom decimalnih razrijeđenja. Tako pripremljeni uzorci su nacijsajpljeni (0,1 mL) metodom širenja razmaza na četiri različite hranjive podloge: EC-X Gluc agar, Endo agar, Mac Conkey agar i m-Faecal Coliform agar (Biolife, Italija). Svaka hranjiva podloga pripremljena je u jednoj seriji. Nacijsajpljene podloge su inkubirane u termostatu na 35±0,5 °C kroz 48 h. Nakon inkubacije izbrojane su porasle kolonije koliformnih bakterija, te kolonije *E. coli*. Broj bakterija izražen je kao broj kolonija (CFU) po jednom mL uzorka. Kao pozitivna kontrola u istraživanju je korištena čista kultura *E. coli* DSM 498. Na osnovu broja ukupnih koliformnih bakterija u uzorku vode, određena je vrsta vode prema Uredbi o klasifikaciji voda Republike Hrvatske (NN 77/98.).



Slika 5: Karta grada Zagreba s označenim postajama istraživanja (<http://maps.yahoo.com>).

**Tablica 5:** Naziv i oznaka postaje uzimanja uzorka.

	Postaja	Oznaka postaje
1	Botanički vrt	BV
2	Srednjak	SR
3	Vugrov potok 1	VP1
4	Vugrov potok 2	VP2
5	Vrapčak	VR
6	Černomerec	ČR
7	Bliznec	B
8	Maksimirec	M
9	Dalićevac	D
10	1. maksimirsko jezero A	1A
11	1. maksimirsko jezero B	1B
12	2. maksimirsko jezero	2
13	3. maksimirsko jezero A	3A
14	3. maksimirsko jezero B	3B
15	4. maksimirsko jezero A	4A
16	4. maksimirsko jezero B	4B
17	5. maksimirsko jezero A	5A
18	5. maksimirsko jezero B	5B
19	5. maksimirsko jezero C	5C



**Slika 6:** Plan parka Maksimir s označenim postajama istraživanja (<http://www.park-maksimir.hr>).

**Tablica 8:** Postotak koeficijenta varijacije (CV) broja ukupnih koliformnih bakterija i postotka *E. coli* određeni kultivacijom na četiri različite hranjive podloge.

Uzorak	Ukupni koliformi CV(%)	<i>E. coli</i> CV(%)
<i>E. coli</i> 498	23	0
BV	35	54
SR	33	65
VP1	21	36
VP2	18	63
VR	35	143
ČR	30	63
B	48	154
M	23	91
D	22	88
1A	74	89
1B	37	91
2	60	83
3A	85	155
3B	40	71
4A	33	187
4B	38	200
5A	50	161
5B	80	120
5C	63	200

### 3. REZULTATI I RASPRAVA

Rezultati određivanja broja ukupnih koliformnih bakterija i postotni udio bakterije *E. coli* u istraživanim uzorcima prikazani su u **tablici 6**. Određen broj ukupnih koliformnih bakterija i postotni udio *E. coli* u populaciji ukupnih koliforma u istom uzorku bio je različit na različitim hranjivim podlogama, bez utvrđene pravilnosti.

Dobivene vrijednosti ukupnih koliformnih bakterija uspoređene su s vrijednostima za pojedinu vrstu vode navedenim u Uredbi o klasifikaciji voda Republike Hrvatske (NN 77/98; **tablica 7**). U uzorcima voda SR, D i 2 (**tablica 6**) kultivacijom ukupnih koliforma na EC X-Gluc agaru određena je IV. vrsta vode, dok je kultivacijom na ostale tri podloge određena V. vrsta vode. U uzorku vode 3A kultivacijom koliforma na četiri različite podloge dobivene su vrste voda od III. do V. U uzorcima voda 4A i 5C kultivacijom na Mac Conkey agaru određena je u klasu viša ili niža vrsta vode u odnosu na kultivaciju na drugim podlogama. Vidljivo je da je u 6 od 19 ispitivanih uzoraka varijacija određenog broja ukupnih koliformnih bakterija rezultirala različitom interpretacijom kvalitete vode.

**Tablica 7:** Vrste voda s obzirom na broj ukupnih koliformnih bakterija.

Vrsta vode	Broj ukupnih koliformnih bakterija / L
I	< $5 \times 10^2$
II	$5 \times 10^2 - 5 \times 10^3$
III	$5 \times 10^3 - 10^5$
IV	$10^5 - 10^6$
V	> $10^6$

U **tablici 8** prikazani su koeficijenti varijacije dobivenih rezultata. Koeficijent varijacije broja ukupnih koliforma kultivacijom na četiri različite hranjive podloge iznosio je 18% do 85%. Postotni udio *E. coli* unutar populacije ukupnih koliforma kultivacijom na četiri različite hranjive podloge pokazao je znatno viši koeficijent varijacije od 36% do čak 200%.

Iz prikazanih rezultata vidljivo je da vrsta korištene komercijalne hranjive podloge ima vrlo važnu ulogu u vrijednostima dobivenog broja ukupnih koliformnih bakterija, a naročito u određivanju vrste *E. coli* u uzorku. U prosjeku su najveće vrijednosti ukupnih koliforma određene uzgojem na Mac Conkey agaru, nakon čega su slijedili Endo agar, m-Faecal Coliform agar te EC-X Gluc agar. Najveći postotak *E. coli* zabilježen je uzgojem na Mac Conkey agaru, nakon čega su slijedili m-Faecal Coliform agar, Endo agar te EC-X Gluc agar.

Sve četiri ispitane podloge su selektivne za uzgoj koliformnih bakterija i omogućavaju diferencijaciju *E. coli* od ostalih vrsta koliforma. No, osobine selektivnosti i diferencijacije nisu jednake kvaliteti na navedene četiri hranjive podloge, zbog njihovog različitog kvalitativnog sastava. S obzirom na prosječno najveće vrijednosti ukupnih koliforma i postotak *E. coli*, moglo bi se zaključiti da je Mac Conkey agar najpodobniji za kultivaciju koliforma. No, ova podloga je svojim sastavom slabo selektivna za koliformne bakterije. Zbog sličnosti kolonija *E. coli*, koje su crvene boje sa crvenom zonom

**Tablica 6:** Broj koliformnih bakterija, postotak *E. coli* unutar populacije ukupnih koliforma i vrsta vode određeni kultivacijom na četiri različite hranjive podlove.

Uzorak	Hranjiva podloga	Ukupni koliformi (CFU/mL)	<i>E. coli</i> (%)	Vrsta vode	Uzorak	Hranjiva podloga	Ukupni koliformi (CFU/mL)	<i>E. coli</i> (%)	Vrsta vode
<i>E.coli</i> 498	EC-X Gluc agar	250	100		1A	EC-X Gluc agar	200	0	IV
<i>E.coli</i> 498	Endo agar	160	100		1A	Endo agar	850	12	IV
<i>E.coli</i> 498	Mac Conkey agar	270	100		1A	Mac Conkey agar	370	16	IV
<i>E.coli</i> 498	m-Faecal Coliform agar	200	100		1A	m-Faecal Coliform agar	220	5	IV
BV	EC-X Gluc agar	250	12	IV	1B	EC-X Gluc agar	420	5	IV
BV	Endo agar	330	45	IV	1B	Endo agar	670	3	IV
BV	Mac Conkey agar	520	25	IV	1B	Mac Conkey agar	630	32	IV
BV	m-Faecal Coliform agar	280	50	IV	1B	m-Faecal Coliform agar	280	25	IV
SR	EC-X Gluc agar	900	1	IV	2	EC-X Gluc agar	190	0	IV
SR	Endo agar	1800	9	V	2	Endo agar	1800	6	V
SR	Mac Conkey agar	1800	14	V	2	Mac Conkey agar	1800	3	V
SR	m-Faecal Coliform agar	2200	9	V	2	m-Faecal Coliform agar	2200	2	V
VP1	EC-X Gluc agar	21600	5	V	3A	EC-X Gluc agar	50	0	III
VP1	Endo agar	17800	4	V	3A	Endo agar	585	0	IV
VP1	Mac Conkey agar	21400	8	V	3A	Mac Conkey agar	1080	13	V
VP1	m-Faecal Coliform agar	13250	5	V	3A	m-Faecal Coliform agar	340	3	IV
VP2	EC-X Gluc agar	79000	1	V	3B	EC-X Gluc agar	110	9	IV
VP2	Endo agar	117000	14	V	3B	Endo agar	160	6	IV
VP2	Mac Conkey agar	112000	20	V	3B	Mac Conkey agar	230	4	IV
VP2	m-Faecal Coliform agar	92000	16	V	3B	m-Faecal Coliform agar	100	20	IV
VR	EC-X Gluc agar	26350	0	V	4A	EC-X Gluc agar	700	0	IV
VR	Endo agar	22967	2	V	4A	Endo agar	730	1	IV
VR	Mac Conkey agar	33600	15	V	4A	Mac Conkey agar	1365	26	V
VR	m-Faecal Coliform agar	49350	2	V	4A	m-Faecal Coliform agar	940	0	IV
ČR	EC-X Gluc agar	2377	1	V	4B	EC-X Gluc agar	390	0	IV
ČR	Endo agar	5150	23	V	4B	Endo agar	240	0	IV
ČR	Mac Conkey agar	4207	20	V	4B	Mac Conkey agar	570	7	IV
ČR	m-Faecal Coliform agar	3800	26	V	4B	m-Faecal Coliform agar	310	0	IV
B	EC-X Gluc agar	150	0	IV	5A	EC-X Gluc agar	180	0	IV
B	Endo agar	210	19	IV	5A	Endo agar	737	3	IV
B	Mac Conkey agar	460	4	IV	5A	Mac Conkey agar	790	38	IV
B	m-Faecal Coliform agar	350	0	IV	5A	m-Faecal Coliform agar	510	4	IV
M	EC-X Gluc agar	190	0	IV	5B	EC-X Gluc agar	140	0	IV
M	Endo agar	260	15	IV	5B	Endo agar	220	0	IV
M	Mac Conkey agar	160	13	IV	5B	Mac Conkey agar	775	5	IV
M	m-Faecal Coliform agar	260	4	IV	5B	m-Faecal Coliform agar	290	3	IV
D	EC-X Gluc agar	950	0	IV	5C	EC-X Gluc agar	400	0	IV
D	Endo agar	1025	10	V	5C	Endo agar	160	0	IV
D	Mac Conkey agar	1520	4	V	5C	Mac Conkey agar	70	0	III
D	m-Faecal Coliform agar	1100	5	V	5C	m-Faecal Coliform agar	300	3	IV

precipitacije, s kolonijama ostalih koliformnih bakterija, koje su ružičaste boje, razlikovanje kolonija *E. coli* na Mac Conkey agaru je subjektivno i nedovoljno pouzdano (Finney i sur., 2003.).

Najveći broj ukupnih koliforma i nalaz najvećeg postotka *E. coli* ne mora nužno značiti da je upravo ta hranjiva podloga najbolji izbor. Ovakvi se rezultati mogu pripisati lažno pozitivnim rezultatima, zbog slabe selektivnosti i mogućnosti diferencijacije hranjive podlove. Odabir hranjive podloge za uzgoj ukupnih

koliformnih bakterija je rezultat njezine cijene i kvalitete. Na EC X-Gluc agaru su u prosjeku dobivene najniže vrijednosti ukupnih koliforma i postotak *E. coli*. Najvjerojatnije su prosječne veće opažene vrijednosti na Mac Conkey, Endo i m-Faecal Coliform agaru rezultat lažno pozitivnih rezultata. EC X-Gluc agar je prema svom kvalitativnom sastavu visoko selektivna i diferencijalna kromogena podloga koja se može preporučiti za uzgoj koliformnih bakterija između četiri ispitane hranjive podlove u ovom istraživanju.

## 4. ZAKLJUČAK

U ovom radu ispitana je pogodnost četiri komercijalne krute hranjive podloge (EC X-Gluc, Endo, Mac Conkey i m-Faecal Coliform agar) za kultivaciju ukupnih koliformnih bakterija iz uzorka površinskih voda. Određeni broj ukupnih koliformnih bakterija i postotni udio *E. coli* u populaciji ukupnih koliforma u istom uzorku bio je različit na različitim hranjivim podlogama. Kultivacijom istog uzorka na različitim podlogama koeficijent varijacije broja ukupnih koliforma iznosio je 18% do 85%, a postotni udio *E. coli* unutar populacije ukupnih koliforma iznosio je 36% do čak 200%. U 6 od 19 ispitivanih uzoraka varijacija određenog broja ukupnih koliformnih bakterija rezultirala je različitom interpretacijom kvalitete vode.

Kod izbora komercijalno dostupne hranjive podloge za uzgoj ukupnih koliformnih bakterija potrebno je dobro analizirati sve pozitivne i negativne strane pojedine hranjive podloge. ECX-Gluc agar je prema svom kvalitativnom sastavu visoko selektivna i diferencijalna kromogena podloga koja se može preporediti za uzgoj koliformnih bakterija između četiri hranjive podloge analizirane u ovom istraživanju. ■

## LITERATURA

- Bitton G. (2005.): *Wastewater Microbiology*. John Wiley&Sons, Inc. Hoboken, New Jersey.
- Finney M., Smullen J., Foster H.A., Brokx S., Storey D.M. (2003.): Evaluation of Cromocult coliform agar for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae from faecal samples from healthy subjects. *J. Microbiol. Methods* 54, 353–358.
- Henze M., Loosdrecht van M. C. M., Ekama G.A., Brdjanovic D. (2008.): *Biological Wastewater Treatment. Principles, Modelling and Design*. IWA Publishing, London.
- Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T. (1994.): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore.
- NN (1998.): Uredba o klasifikaciji voda Republike Hrvatske. Narodne novine 77/98.
- Stilinović B., Hrenović J. (2009.): *Praktikum iz bakteriologije*. Kugler, Zagreb.

## SUITABILITY OF COMMERCIAL SOLID NUTRIENT MEDIA FOR CULTIVATION OF TOTAL COLIFORM BACTERIA FROM SURFACE WATERS

**Abstract.** This paper investigates the suitability of four commercial selective, differential nutrient media (EC X-Gluc, Endo, Mac Conkey and m-Faecal Coliform agar manufactured by Biolife) for cultivation of total coliform bacteria from surface water samples. The number of total coliform bacteria and the percentage of the bacteria *Escherichia coli* in the total coliform population in the same sample were significantly different on different nutrient media. In 6 of 19 tested water samples, a variation in the number of total coliform bacteria resulted in different interpretations of water quality. When selecting a commercially available nutrient media for cultivation of total coliform bacteria, it is necessary to perform an adequate analysis of all positive and negative aspects of individual nutrient media. The EC X-Gluc agar is, according to its quality composition, a highly selective, differential chromogenic medium which is more recommendable for cultivation of coliform bacteria than the remaining three media whose suitability was tested during this investigation.

**Key words:** nutrient media, cultivation, surface waters, total coliform bacteria

## DIE EIGNUNG VON INDUSTRIELL HERGESTELLTEN FESTEN NÄHRBÖDEN ZUR KULTIVIERUNG VON GESAMTCOLIFORMEN BAKTERIEN AUS OBERFLÄCHENWASSER

**Zusammenfassung.** Diese Untersuchung befasste sich mit der Eignung von vier industriell hergestellten festen Selektiv- und Differenzialnährböden (EC X-Gluc-, Endo-, MacConkey- und m-Faecal Colifor-Agar, hergestellt von Biolife) zur Kultivierung von gesamtcoliformen Bakterien aus Oberflächenwasserproben. Die festgestellte Anzahl an gesamtcoliformen Bakterien und der Prozentanteil der Bakterien *Escherichia coli* an der Gesamtcoliformenpopulation in der gleichen Probe wiesen wesentliche Unterschiede auf verschiedenen Nährböden auf. In 6 von 19 untersuchten Wasserproben führte die Variation der festgestellten Anzahl von gesamtcoliformen Bakterien zu unterschiedlichen Erklärungen der Wasserqualität. Bei der Wahl eines kommerziell verfügbaren Nährboden zur Kultivierung von gesamtcoliformen Bakterien ist es erforderlich, alle Vorteile und Nachteile einzelner Nährböden gründlich zu analysieren. Von den vier, in dieser Untersuchung geprüften Nährböden ist ECX-Gluc-Agar laut der qualitativen Zusammensetzung ein chromogener Selektiv- und Differenzialnährboden, der für die Kultivierung von coliformen Bakterien empfohlen werden kann.

**Schlüsselwörter:** Nährböden, Kultivierung, Oberflächenwasser, gesamtcoliforme Bakterien