

# TECHNISCHES DATENBLATT

Artikel Nr. : 8858.0500

## TBX-AGAR

### AUCH BEKANNT ALS

TBX

### SPEZIFIKATION

Selektives differenzielles Medium für den Nachweis und die Auszählung von  $\beta$ -Glucuronidase positiven *E. coli*-Stämmen nach ISO-Normen.

### FORMULIERUNG\* IN G/L

|  |        |
|--|--------|
| Trypton.....   | 20,000 |
| Gallensalze Nr. 3.....                               | 1,500  |
| 5-Brom-4-Chlor-3-Indoxyl- $\beta$ -D-Glucuronid..... | 0,075  |
| Agar.....  | 15,000 |

Finaler pH-Wert 7,2  $\pm$ 0,2 bei 25 °C

\*Eingestellt und/oder supplementiert, um die Leistungskriterien zu erfüllen

### HERSTELLUNG

36,5 g in 1 l destilliertem Wasser suspendieren und zum Kochen bringen. 15 Minuten lang im Autoklaven bei 121 °C sterilisieren. In Platten füllen.

### BESCHREIBUNG

*Escherichia coli* ist das einzige coliforme Bakterium, das  $\beta$ -D-Glucuronidase besitzt und kann dadurch leicht von anderen Koliformen, die diese enzymatische Aktivität nicht aufweisen, unterschieden werden. Es gibt einige Stämme von *E. coli* (weniger als 3-4% der Gesamtpopulation), die  $\beta$ -D-Glucuronidase-negativ sind.

*E. coli* spaltet das chromogene Substrat (X- $\beta$ -D-Glucuronid) mit dem Enzym  $\beta$ -D-Glucuronidase intrazellulär die Bindung zwischen dem blaugrünen Chromophor und dem  $\beta$ -D-Glucuronid. Das Chromophor reichert sich in den Zellen an und erzeugt blau-grün gefärbte Kolonien.

Der hohe Gehalt an Gallensalzen des Mediums hemmt das Wachstum begleitender grampositiver Bakterien und die hohe Inkubationstemperatur (44 $\pm$ 1 °C) hemmt andere gramnegative Bakterien.



## TECHNIK

### 1. direkte Inokulation (Giessplattentechnik)

1 ml der Testprobe aseptisch in eine sterile Petrischale überführen und den Vorgang mit weiteren Verdünnungen wiederholen. Pro Verdünnung werden zwei Platten beimpft. 15 ml geschmolzenen und abgekühlten (44-47 °C) TBX-Agar in jede Petrischale gießen. Sorgfältig mischen und die Mischung erstarren lassen. Die Zeit zwischen der Verteilung des Inokulums und dem Ausgießen des Mediums sollte 15 Minuten nicht überschreiten.

Die beimpften Platten umdrehen und 20-24 Stunden bei 44±1 °C inkubieren. Bei Verdacht auf gestresste Zellen zunächst 4 h ±0,25 bei 37±1 °C inkubieren und dann die Inkubationstemperatur auf 44 °C erhöhen. Die Gesamtinkubationszeit sollte 24 Stunden nicht überschreiten und die Inkubationstemperatur sollte nicht über 45 °C liegen.

### 2. Membran-Inkubation (Reanimationstechnik)

Es werden keine speziellen Membranen empfohlen. Es kann jede sterile und nicht inhibierende Membran aus Celluloseacetat oder Cellulosemischestern mit einer Porengröße von 0,45 µm bis 1,2 µm und einem Durchmesser von 85 mm verwendet werden.

#### 2.1. Reanimation

Aseptisch eine Membran auf die getrocknete Oberfläche von zwei Platten Mineral-Modified-Glutamate-Agar (MMGA) legen, wobei darauf zu achten ist, dass keine Luftblasen eingeschlossen werden. 1 ml der Testprobe in die Mitte jeder Membran geben und das Inokulum gleichmäßig über die gesamte Membranoberfläche verteilen. Wiederholen Sie das Verfahren für jede Verdünnung der Probe. Lassen Sie die beimpften Platten 15 Minuten lang bei Raumtemperatur stehen, bis das Inokulum in den Agar eingeweicht ist. Die Platten bei 37±1 °C für 4 ± 0,25 Stunden inkubieren.

#### 2.2. Übertragung auf das selektive Medium

Nach der Wiederbelebenszeit werden die Membranen mit einer sterilen Pinzette aus dem Wiederbelebensmedium auf die Platten des TBX-Agar übertragen, wobei darauf zu achten ist, dass keine Luftblasen unter der Membran eingeschlossen werden. Die Membranoberfläche darf nicht berührt oder gestört werden. Inkubieren Sie die Platten 20-24 Stunden bei 44 °C (und nicht mehr als 45 °C).

### 3. Ergebnisse

β-D-Glucuronidase-positive *Escherichia coli* produzieren blaue Kolonien (blau-grün). Bei einigen Stämmen (3-4 % der Gesamtpopulation) von *E. coli* fehlt das Enzym Glucuronidase, diese produzieren farblose Kolonien. Einige gestresste Zellen von *E. coli* sind nicht in der Lage, bei 44 °C zu wachsen und produzieren keine Kolonien.

## QUALITÄTSKONTROLLE

Inkubationstemperatur: 44 ± 1 °C

Inkubationszeit: 20-24 h

Inokulum: Sollbereich 100 ±20 KBE. Min. 50 KBE (Produktivität)/ 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> KBE (Selektivität)/ 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> KBE (Spezifität), gemäß ISO 11133:2018. MF Methode.

| Mikroorganismus                          | Wachstum             | Bemerkungen       |
|--|----------------------|-------------------|
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 19433 | völlige Inhibition   | Selektivität      |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922      | Produktivität > 0,50 | Blaue Kolonien    |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739       | Produktivität > 0,50 | Blaue Kolonien    |
| <i>E. coli</i> NCTC® 13216               | Produktivität > 0,50 | Blaue Kolonien    |
| <i>C.freundii</i> ATCC® 43864            | Gut (Spezifität)     | Farblose Kolonien |

## REFERENZEN

- DELISLE, G.L. & A. LEY (1989) Rapid detection of *E. coli* in urine samples by a new chromogenic β-glucuronidase assay. *J. Clin. Microbiol.* 27:778-779
- ISO Standard 16649-1:2018. Microbiology of foods chain- Horizontal method for the enumeration of β-glucuronidase-positive *Escherichia coli* - Part 1: Colony count technique at 44°C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β-D-glucoride.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- OGDEN, I.D. & A.J. WATT (1991) An evaluation of fluorogenic and chromogenic assays for the direct enumeration of *E. coli*. *Letters in Appl. Microbiol.* 13:212-215.
- SCHWEIZERISCHES LEBENSMITTELBUCH (2005) Kap.56 Mikrobiologie, Bundesamt für Gesundheit. Direktionsbereich Verbraucherschutz. Bern.



## LAGERUNG

Dicht verschlossen, lichtgeschützt, an einem trockenen Ort (4-30 °C) aufbewahren.

---



**Th. Geyer GmbH & Co. KG**  
Domierstr. 4 – 6  
D-71272 Renningen  
Tel.: +49 7159 1837-0  
Fax: +49 7159 1837-710  
renningen@thgeyer.de  
www.thgeyer.de

BW-Bank (Swift/BIC SOLADEST800)  
IBAN DE85800501010002038302  
Postbank Stuttgart (Swift/BIC PBNKDEFFXXX)  
IBAN DE32800100700000020708  
Deutsche Bank (Swift/BIC DEUTDESSXXX)  
IBAN DE06800700700125518100

St.-Nr. 70083/40018 / USt-IdNr. DE147510304  
Amtsgericht Stuttgart / HRA-Nr. 254140  
Persönlich haftende Gesellschafterin:  
Geyer Beteiligungsgesellschaft mbH  
Amtsgericht Stuttgart / HRB-Nr. 252035  
Geschäftsführer: Lutz-Alexander Geyer /  
Oliver-Alexander Geyer / André Meise / Ralf Streicher