

# TECHNISCHES DATENBLATT

Artikel Nr. 9880

**TBX Agar, gebrauchsfertiges Nährmedium**

---

## SYNONYME

Trypton Galle X-Glucuronid Agar, Trypton-Galle-Agar mit X-Glucuronid

---

## SPEZIFIKATION

Gebrauchsfertiges Nährmedium. Selektiver und differenzierter fester Nährboden für den Nachweis und die Auszählung von  $\beta$ -Glucuronidase positivem *Escherichia coli* nach ISO 16649.

Farbe: strohfarbenes Gelb  
pH: 6,7,2  $\pm$  0,2 bei 25 °C

---

## ZUSAMMENSETZUNG IN G/ L

Trypton	20,000
Gallensalze	1,500
Agar	15,000
5-Bromo-4-Chloro-3-Indoxyl- $\beta$ -D-Glucuronid	0,075

---

## VERPACKUNGSEINHEITEN

### 9880-10x100ML

10 Flaschen

Inhalt: 125  $\pm$  3 ml

Verpackungseinheit: 1 Karton mit 10 125-ml-Flaschen. Innenkappe aus Kunststoff mit Schraubverschluss.  
Zur Verwendung von Spritzenadeln mit einem Durchmesser  $\leq$  0,8 mm.

### 9880-10x200ML

10 Flaschen

Inhalt: 200  $\pm$  5 ml

Verpackungseinheit: 1 Karton mit 10 250 ml Flaschen. Innenkappe aus Kunststoff mit Schraubverschluss.  
Zur Verwendung von Spritzenadeln mit einem Durchmesser  $\leq$  0,8 mm.



## RICHTLINIEN

### Beschreibung:

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

*Escherichia coli* absorbiert das chromogene Substrat (X- $\beta$ -D-Glucuronid) und das bakterielle Enzym  $\beta$ -D-Glucuronidase spaltet die Bindung zwischen der chromophoren X-Fraktion und dem  $\beta$ -D-Glucuronid.

Die freie X-Fraktion färbt die *Escherichia coli* Zellen und erzeugt eine blau-grüne Kolonie.

Der hohe Gehalt des Mediums an Gallensalzen hemmt das Wachstum der begleitenden grampositiven Bakterien und die hohe Inkubationstemperatur (44 °C) hemmt gramnegative Bakterien außer *Escherichia coli*.

### Technik:

Agar schmelzen (100°C), in die Platte gießen und nach den internen Vorgaben verfahren.

#### 1. Direkte Inokulation (Pour-Plate-Technik)

1 ml der Testprobe aseptisch in eine sterile Petrischale überführen und den Vorgang mit weiteren Verdünnungen wiederholen. Pro Verdünnung zwei Platten beimpfen. In jede Petrischale 15 ml geschmolzenen und abgekühlten (44-47 °C) TBX-Agar gießen. Sorgfältig mischen und die Mischung erstarren lassen. Die Zeit zwischen dem Verteilen des Inokulums und dem Ausgießen des Mediums sollte 15 Minuten nicht überschreiten. Die geimpften Platten umdrehen und bei  $44 \pm 1$  °C 20-24 Stunden lang bebrüten. Bei Verdacht auf gestresste Zellen zunächst 4 Stunden  $\pm$  0,25 Stunden bei  $37 \pm 1$  °C inkubieren und dann die Inkubationstemperatur auf 44 °C erhöhen. Die Gesamtbebrütungszeit sollte 24 Stunden und die Bebrütungstemperatur 45 °C nicht überschreiten.

#### 2. Bebrütung mit Membranen (Wiederbelebungs-technik)

Es werden keine speziellen Membranen empfohlen. Jede sterile und nicht inhibierende Membran aus Cellulose Acetat oder gemischten Estern aus Cellulose mit einer Porengröße von 0,45  $\mu$ m bis 1,2  $\mu$ m und einem Durchmesser von 85 mm kann verwendet werden.

##### 2.1. Wiederbelebung

Aseptisch eine Membran auf die getrocknete Oberfläche von zwei Platten mit mineralmodifiziertem Glutamatagar (MMGA) ohne den Einschluss von Luftblasen legen. Geben Sie 1 ml der Testprobe in die Mitte jeder Membran und verteilen Sie das Inokulum gleichmäßig auf der gesamten Membranoberfläche. Wiederholen Sie den Vorgang für jede Verdünnungsstufe der Probe. Die geimpften Platten 15 Minuten lang bei Raumtemperatur stehen lassen, bis das Inokulum in den Agar eingedrungen ist. Die Platten bei  $37 \pm 1$  °C für  $4 \pm 0,25$  Stunden bebrüten.

##### 2.2. Umfüllen auf das Selektivmedium

Nach der Wiederbelebungszeit werden die Membranen mit einer sterilen Pinzette vom Wiederbelebungsmedium auf die Platten mit TBX-Agar übertragen, wobei darauf zu achten ist, dass keine Luftblasen unter der Membran eingeschlossen werden. Die Oberfläche der Membranen nicht berühren oder beschädigen. Die Platten 20-24 Stunden lang bei 44 °C (und nicht mehr als 45 °C) bebrüten.

#### 3. Ergebnisse

Die  $\beta$ -D-Glucuronidase-positiven *Escherichia coli* bilden blaue Kolonien (blau-grün). Einigen Stämmen (3-4 % der Gesamtpopulation) von *Escherichia coli* fehlt das Glucuronidase-Enzym und sie bilden farblose Kolonien. Einige gestresste Zellen von *Escherichia coli* sind nicht in der Lage, bei 44 °C zu wachsen und bilden keine Kolonien.

Hinweis: Die festen Nährböden können auf verschiedene Weise aufgeschmolzen werden: im Autoklaven, im Wasserbad und, wenn der Kunde es für angemessen hält, auch in der Mikrowelle. Wenn die Mikrowellenoption gewählt wird, müssen bestimmte Sicherheitsmaßnahmen ergriffen werden, um ein Zerschlagen der Behälter zu vermeiden, z. B. das Lösen des Schraubverschlusses und das Einlegen der Flasche oder des Röhrchens in ein Wasserbad in der Mikrowelle. Die Schmelztemperatur und -dauer hängen von der Form des Behälters, dem

Volumen des Mediums und der Wärmequelle ab. Eine Überhitzung ist ebenso zu vermeiden wie zu lange Erhitzungszeiten.

## WACHSTUMSKONTROLLE

Schmelzen der Nährböden - Ausgießen der Platten - Animpfen  
 Praktischer Bereich 100 ± 20 KBE. Min. 50 KBE (Produktivität)/ 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> KBE (qualitative Selektivität).  
 Mikrobiologische Kontrolle nach ISO 11133:2014/A1:2018.  
 Analytische Methodik nach ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020  
 Aerobiose. Inkubation bei 44 °C ± 1 °C für 20 – 24 h

Mikroorganismus	Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922, WDCM 00013	Gut (≥ 50%) Blaue Kolonien
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739, WDCM 00012	Gut (≥ 50%) Blaue Kolonien
<i>Escherichia coli</i> NCTC® 13216, WDCM 00202	Gut (≥ 50%) Blaue Kolonien
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 19433, WDCM 00009	Gehemmt
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC® 43864 (37°C ±1)	Gut – farblose Kolonien

### Sterilitätskontrolle:

Inkubation 48 Stunden bei 30-35 °C und 48 Stunden bei 20-25 °C: KEIN WACHSTUM.  
 Prüfen Sie 7 Tage nach der Bebrütung unter gleichen Bedingungen.

## 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-glucuronide. ISO 11133:2014. 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

8-25 °C

---

## HALTBARKEIT

12 Monate ungeöffnet ab Herstellungsdatum

---

aktualisiert: 30.08.2022

